


VE
RI
TAS

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

SCEAUX. — IMPRIMERIE CHARAIRE.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

(JOURNAL DE MICROBIOLOGIE)

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX

TOME VINGT ET UNIÈME

1907

AVEC VINGT-DEUX PLANCHES

PARIS

MASSON ET Cie, EDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (6e)

21me ANNÉE JANVIER 1907 N° 1

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LE TRAITEMENT

DES

Infections expérimentales à Trypanosoma gambiense

PAR F. MESNIL, MAURICE NICOLLE ET P. AUBERT

Ce mémoire constitue la suite naturelle des recherches entreprises par deux d'entre nous pour découvrir, en même temps, la meilleure couleur de benzidine et le meilleur arsenical applicables au traitement des diverses trypanosomiases [1].

Nous avons déjà fait connaître nos résultats pour ce qui concerne 3 trypanosomiases animales, Nagana, Mal de caderas et Surra, et le Dr Wenyon, travaillant à l'Institut Pasteur, a étendu ces recherches aux infections produites par le *Trypan. dimorphon*.[2]

Ayant abordé, plus tardivement, les infections à *Trypan. gambiense* (agent de la trypanosomiase humaine), nous n'avons pu, dans notre premier mémoire, que donner une classification incomplète de nos « bonnes couleurs » suivant leur degré d'activité vis-à-vis de ces infections.

Depuis cette époque, nous avons surtout consacré nos efforts à trouver des procédés thérapeutiques raisonnés et efficaces. Les difficultés que comportait un tel problème nous ont fait différer jusqu'à maintenant la publication de nos expériences.

Sans revenir sur l'historique général du traitement des trypanosomiases, que nous avons présenté dans notre second

1. Ces *Annales*, t. XX, juin et juillet 1906.

2. *In* NICOLLE et MESNIL, *British med. Assoc.*, Congrès de Toronto, août 1906. Voir *British med. Journ.*, 22 déc. 1906, p. 1777.

mémoire, nous préciserons ce qui est relatif au tryp. humain.

Dès la découverte de cet organisme, comme agent de la maladie du sommeil, il a été indiqué de traiter les individus atteints par les préparations arsenicales courantes, par exemple la liqueur de Fowler. C'est ce qu'ont fait divers auteurs, avec des résultats plus ou moins encourageants.

Laveran, le premier [1], a reconnu l'action de l'acide arsénieux sur les infections expérimentales à *T. gambiense;* mais, devant l'insuffisance de ce médicament, il a eu l'idée d'associer l'As (sous forme d'arsénite de Na) au trypanroth et il [2] a donné des détails très circonstanciés sur la méthode employée et les résultats obtenus chez deux rats (un 3ᵉ rat, témoin, a péri en 97 jours d'infection intense), 2 chiens et 2 *Macacus sinicus.* Ces animaux, pris au début de la maladie, ont subi, chacun, 3 ou 4 traitements, à 8 jours environ d'intervalle, sans attendre les rechutes. Chaque traitement comprenait une injection, à dose convenable, d'acide arsénieux et, 2-3 jours après, une injection de trypanroth. Dans ces conditions, les trypan. disparaissaient, à l'examen microscopique, dès la 1ʳᵉ injection arsenicale, ne reparaissaient généralement pas (en particulier chez les singes) et, au moment des publications de l'auteur (2 mois à 2 mois 1/2 après la cessation de tout traitement, 3 mois environ après le dernier examen positif), les animaux, en bonne santé, paraissaient guéris. Une telle issue favorable n'entraîne pas l'immunité, car Laveran [3] cite le cas d'un rat qui, guéri depuis un an, a été infecté lors d'une nouvelle inoculation.

En expérimentant sur les singes, Brumpt et Wurtz [4] non seulement n'ont pu obtenir les bons résultats indiqués par Laveran, mais n'ont généralement pas observé la disparition des trypan. Ils attribuent ces différences capitales à la grande virulence de la race inoculée. Cette explication n'est pas admise par Laveran. Elle ne saurait convenir pour les recherches de de Magalhaes [5] sur des rats, recherches entreprises avec un

1. *C. R. Acad. Sciences*, t. CXXXVIII, 22 fév. 1904, p. 450.

2. *Ibid.*, t. CXL, 30 janv. 1905, p. 287, et 17 avril 1905, p. 1081.

3. *Ibid.*, t. CXLI, 10 juill. 1905, p. 91.

4. Brumpt et Wurtz, *C. R. Soc. Biologie*, t. LIX, 1ᵉʳ juillet 1905, p. 61. — Discussion : Laveran, *Ibid.*, 8 juillet, p. 76; Brumpt, 21 octobre, p. 316; Laveran, p. 318.

5. De Magalhaes, *Arch. Inst. de Bact. Camara Pestana*, t. I, mai 1906, p. 171.

virus qui ne tuait ces Rongeurs qu'en 85 jours en moyenne. Les résultats ont été négatifs dans trois séries d'expériences. Dans une quatrième, 3 rats sur 5 semblent bien avoir bénéficié du traitement. Les tryp. ont, en effet, disparu dès le début de la médication, pour ne se montrer à nouveau qu'après plus de 100 ou 150 jours; les animaux ont succombé après 4, 5 et 7 mois (au lieu de 67 jours).

A Thomas[1], de l'École tropicale de Liverpool, revient le mérite d'avoir introduit l'atoxyl dans la thérapeutique des trypanosomiases, et de la T. humaine en particulier. Après avoir formulé les règles de la médication chez les animaux infectés, il affirme, en termes généraux, les bons résultats obtenus dans le traitement des maladies expérimentales dues à diverses races de *T. gambiense*, dont l'une très virulente. Mais il faut convenir que, pas plus ces indications générales que les quelques expériences dont Thomas donne le détail, ne suffisent à donner une idée précise de la valeur de l'atoxyl. Les résultats, déclare Todd[2], « *were far from conclusive, but they were distinctly encouraging.* »

Pour ce qui concerne l'association atoxyl-trypanroth, Thomas se contente de dire, sans fournir des faits à l'appui, qu'elle est supérieure à l'emploi exclusif de l'un ou l'autre des deux médicaments.

Il fait très justement remarquer avec quelle prudence il faut parler de guérison en matière de trypanosomiases, surtout quand on a affaire au *T. gambiense.*

Comme le travail expérimental de Thomas est le seul qui ait été publié sur l'atoxyl, il nous a semblé indispensable de soumettre ce médicament — dont nous connaissions les bons effets, déjà avant la première publication de Thomas — à une étude très minutieuse.

Depuis le début de nos recherches, Kopke[3], au Congrès de Lisbonne, a donné le résultat du traitement de dix noirs par l'atoxyl. Broden et Rodhain[4] viennent de publier les observa-

1. Thomas, *British med. Journ.*, 27 mai 1905, p. 1140; *Proc. Roy. Soc.*, sér. *B.*, t. LXXVI, 1905, p. 590, Thomas et Breinl, *Liverpool Sch. of Trop. Med.*, mém. XVI, p. 49-64 et 65.

2. J.-L. Todd, *British med. Journ.*, 5 mai 1906, p. 1037.

3. Kopke, xv[e] Congrès intern. de médecine, Lisbonne, 1906, 29 p.

4. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, t. X, nov. 1906, p. 693.

tions, encore en cours, de 3 blancs soumis à la même thérapeutique. De son côté, R. Koch [1] a fait connaître récemment les premiers résultats de son intervention chez de nombreux noirs du lac Victoria.

Tous ces auteurs sont d'accord pour constater les bons effets de l'atoxyl, mais aucun d'eux n'est encore arrivé à des résultats définitifs. Nous avons pu nous rendre compte, personnellement, de ces bons effets, chez trois Européens traités à l'Hôpital Pasteur par le Dr Louis Martin, deux d'entre eux depuis neuf mois environ. Enfin, nous devons signaler que le Dr van Campenhout, à la villa coloniale de Watermael, en Belgique, complète, pour les malades à la 2e période, le traitement à l'atoxyl en donnant la strychnine à l'intérieur.

Le virus dont nous nous sommes servis provenait, comme nous l'avons déjà dit, du liquide céphalo-rachidien du malade de Louis Martin et Girard, soigné à l'Hôpital Pasteur. Ce virus a été entretenu au moyen de passages par rats et par macaques (*sp. variæ*) et nos expériences ont porté sur ces deux espèces animales [2].

Les macaques, témoins de nos diverses séries d'expériences, sont morts après un temps variable : 20 à 51 jours, en moyenne 32 jours. (Les inoculations étaient toujours faites sous la peau.)

Les rats témoins ont succombé en 40 à 134 jours (moyenne 60); parmi eux, 5 sujets, de moins de 100 grammes, ont péri en 40 à 85 jours (moyenne 60); 2 autres, de 150 grammes environ (témoins de notre série de rats adultes), ont résisté 84 et 134 jours. Dans les séries où nous gardions 2 témoins, l'un d'eux était représenté par le plus résistant de toute la série à l'infection. (Les inoculations étaient toujours faites dans le péritoine.)

Macaques et jeunes rats, depuis le moment où le trypanosome apparaît dans le sang, le montrent presque régulièrement à l'examen microscopique. Ils constituent donc des réactifs excellents, pour déceler le temps durant lequel une substance expérimentée peut faire disparaître les parasites de la circulation périphérique.

1. *Deutsche mediz. Woch.*, n° 51, 20 déc., 1906. *Sonderbeilage.*
2. La plupart des macaques, qui nous ont été aimablement donnés par M. Metchnikoff, avaient déjà servi à des expériences sur la syphilis.

Il nous a semblé que le passage par macaque empêche le trypanosome de baisser de virulence pour le rat. En tous cas, les trypanosomes des singes se sont toujours révélés très actifs vis-à-vis des rats. L'inoculation du sang des singes, présumés guéris, à des rats constitue, par conséquent, une excellente pierre de touche de la guérison.

Disons, une fois pour toutes, que le sang de tous les animaux dont il va être question (même de ceux que nous conservons depuis 8 à 10 mois) a été régulièrement et soigneusement examiné 3 fois par semaine, plus souvent quand il était utile.

Notre travail comprend 2 parties :

1° *Recherche des meilleurs médicaments ;*

2° *Mode d'emploi de ces médicaments, une fois trouvés.*

I

RECHERCHE DES MEILLEURS MÉDICAMENTS

Nous avons, d'abord, expérimenté avec celles de nos couleurs qui s'étaient montrées les plus efficaces vis-à-vis des trypanosomiases animales — et, parallèlement, avec l'atoxyl. Un premier examen nous ayant révélé la supériorité de la couleur Ph sur ses congénères, nous avons étudié quelques autres dérivés, plus ou moins voisins de cette substance, et qui ne figurent pas dans notre premier mémoire.

Avec l'atoxyl, on peut obtenir des guérisons d'emblée, rares chez les singes, peut-être moins chez les rats.

Avec les couleurs, on observe constamment des rechutes et, pour apprécier la valeur relative des composés employés, il faut tenir compte du temps qui s'écoule entre la 1re intervention et la rechute. Les chiffres, mesurant ce temps, comportent une valeur assez grande, car ils sont à peu près constants, pour un même médicament, entre la 1e rechute (traitée à nouveau, bien entendu) et la seconde — et, d'autre part, ils se montrent comparables du singe au rat (il n'est question, ici, que des rats de moins de 100 grammes). Cette dernière circonstance nous a même permis, à un moment donné de nos recherches, de ne plus employer que des rats.

Voici les résultats de nos expériences, résumés sous forme

de tableau. Nous devons faire remarquer, immédiatement, que tous nos animaux ont été traités au début de leur infection.

MÉDICAMENTS	SINGES		RATS		REMARQUES
	Dose thér. par kilo. (1)	Rechutes après — jours.	Dose thér. par 100 gr.	Rechutes après — jours.	
Atoxyl. [At]	5 cgr.	12, 17, 19, 19, 31, ∞ (1 fois).	2cgr,5	12, 14, 22, 26, 115, ∞ (2 fois)	Les 2 rats marqués ∞ ont succombé 121 et 171 j. ap. l'intervention.
P. diamidodiphénylurée + ac. H. [Ph]	8 à 10 cgr.	14, 23, 27, 28	3cgr,5 à 5 cgr.	14, 22, 25, 40	A ajouter 1 rat qui n'avait encore rien 35 j. ap. l'intervent.
P. diamidodiphénylthiourée + ac. H.	»	»	—	17	»
P. diamidophénylglycoléther + ac. H.	8 cgr.	14	—	14, 22, 26	»
Benzidine + Glycine ac. H	»	»	—	20	»
Dichlorobenzidine + ac. H [Cl].	8 à 10 cgr.	14, 15, 21(?)	—	9, 18, 24	»
Trypanroth [Tr]	5 cgr.	10	2 cgr.	5, 20	Disparition des trypan. en 48 h. seulement.
Tolidine + ac. H (ac. alc.) [A']	»	»	5 cgr.	10	»
Benzidine + naphtylène-diamine disulfo 2. 7. 3. 6 [α].	7 cgr.	8	3cgr,5	5	Disparition des trypan. en 48 h. seulement.
Tolidine + ac. K.	»	»	4 cgr.	8	»
P. diamidodiphénylamine + ac. H.	»	»	4 cgr.	5 environ.	»
Benzidine + α naphthylamine disulfo 1. 5. 7.	»	»	1cgr,8	5	»
As^2O^3 (sous forme d'arsénite de Na).	»	»	0mgr,5	7,8	»

Parmi les couleurs étudiées, aucune évidemment n'est supérieure à Ph. Quelques-unes, d'après les chiffres obtenus, lui paraissent égales. Telles sont les 3 qui suivent sur le tableau

1. Les couleurs ont été données en solution à 1 °/₀ dans l'eau distillée, l'atoxyl en solution à 2 °/₀, l'arsénite de Na en solution à 1 p. 500.

et, un peu en arrière, Cl. Cette dernière jouit de propriétés irritantes; le singe, inoculé dans le muscle, offre une tendance à réagir par un abcès; on ne saurait donc songer à employer un tel médicament chez l'homme. Quant aux trois autres, elles sont certainement susceptibles de donner de bons résultats, comme on le verra dans la seconde partie de ce travail; mais, ne leur ayant reconnu aucune supériorité sur Ph, il nous a paru inutile de compliquer, par leur étude, nos recherches sur les singes, recherches déjà assez avancées au moment où nous avons été fixés sur la valeur de ces composés. D'ailleurs, un essai fait avec p. diamidophénylglycoléther + ac. H (v. singe 9) ne nous aurait point engagé à continuer.

Avec les autres couleurs, l'intervalle entre les rechutes est en général trop faible pour qu'un traitement puisse être tenté avec succès. En effet, lors d'une nouvelle intervention, ou bien on tue l'animal par intoxication (cas de notre singe traité par Tr), ou bien on n'évite pas une seconde rechute, devant laquelle on est désarmé en raison de l'état de cachexie de l'animal (tel a été, par ex., le cas d'un rat traité par Tr ; et pourtant cet animal n'avait eu une rechute que 20 jours après la 1re intervention).

Les rats, traités par l'arsénite de Na, méritent une mention spéciale. Bien que l'intervalle entre 2 rechutes ne soit que d'une semaine environ, les animaux supportent un grand nombre d'injections médicamenteuses successives et leur vie peut ainsi être prolongée pendant un temps très long (2 à 3 fois celle du témoin). Mais, comme pour les rats naganés (Laveran et Mesnil), l'intervention a une limite et les sujets succombent sans qu'on ait pu les débarrasser des trypan.

L'arsénite de Na demeure donc très inférieur à l'atoxyl, comme dans les autres trypanosomiases, étudiées par nous au point de vue du traitement arsenical. Inutile d'y insister. Revenons, au contraire, en quelques mots, sur les médicaments colorés, pour corroborer et étendre les conclusions données dans notre premier mémoire.

Nous voyons que, vis-à-vis des infections expérimentales à *T. gambiense*, comme vis-à-vis du Nagana, du Mal de caderas et du Surra, la meilleure chaîne latérale est toujours l'acide H; mais, tandis que pour les 3 dernières maladies le meilleur diazo est représenté par la dichlorobenzidine, il l'est, ici, par la

p. diamidodiphénylurée (dont la p. diamidodiphénylthiourée et le p. diamidophénylglycoléther atteignent peut-être l'activité) : la dichlorobenzidine ne vient qu'à une certaine distance. La p. diamidodiphénylamine ne vaut pas mieux que dans le Nagana. La glycine de l'ac. H (avec la benzidine) l'emporte sur l'ac. K (avec la tolidine). Enfin, le Tr se montre supérieur à α et à la couleur « α naphtylamine disulfo 1.5.7 + benzidine ».

La trypanosomiase humaine appartient donc, comme les 3 trypanosomiases animales déjà étudiées par nous, aux affections justiciables des couleurs bleues, tandis que la trypanosomiase à *dimorphon*, comme l'a démontré Wenyon, est au contraire justiciable des couleurs rouges.

L'ensemble de nos recherches et de celles de Wenyon permet d'espérer (ainsi que nous le disions au Congrès de Toronto) que les divers trypanosomes pathogènes pourront être un jour différenciés expérimentalement par le critérium chromothérapique.

II

MODE D'EMPLOI DES MEILLEURS MÉDICAMENTS (PH ET L'ATOXYL)

La supériorité de la couleur Ph et de l'atoxyl sur les autres médicaments ayant été ainsi établie par des recherches d'orientation, nous avons concentré nos efforts sur ces 2 produits, pour arriver à un traitement rationnel des infections expérimentales chez les rats et les singes.

Avec Ph, on n'observe jamais, nous l'avons vu, de disparition définitive des trypan. après une seule injection; avec l'atoxyl, ces disparitions sont rares. On ne peut donc songer pratiquement à débarrasser l'organisme en une seule séance.

La question se posait alors de savoir s'il était préférable d'attendre les rechutes (caractérisées par un examen microscopique positif) et de tenter de réussir en les traitant successivement, ou bien, s'il ne valait pas mieux injecter à plusieurs reprises le médicament, sans attendre les rechutes. Les 2 méthodes pouvaient *a priori* se défendre, la première ayant pour elle de ne pas surcharger, inutilement peut-être, l'organisme de produits toxiques; la seconde permettant de prévenir de nouveaux troubles, source toujours possible de contagion.

Chacune des méthodes a été appliquée avec l'un ou l'autre

des 2 médicaments; et, aussi, en les faisant *alterner* chez un même animal, ce qui offrait l'avantage de ne pas amener l'organisme à l'état d'intolérance pour Ph ou pour l'atoxyl. Le moment de la première intervention thérapeutique a été également varié dans nos diverses expériences.

Disons, de suite, que nous avons obtenu des résultats satisfaisants avec chaque procédé, chez les rats et chez les singes; et, chez ces derniers, surtout quand le médicament employé était l'atoxyl ou bien quand on administrait Ph et l'atoxyl en alternant.

Pour beaucoup de nos animaux, la méthode a été mixte, en ce sens que : ou bien nous avons attendu la première rechute avant de faire le traitement *préventif*, ou bien d'autres rechutes sont venues nous surprendre.

Nous allons exposer successivement les résultats observés chez les rats et chez les singes.

Rats.

Un rat, qui avait reçu, 4 fois, des injections de Ph, à chaque apparition des trypan. a résisté 143 jours (témoin, 47). — Un deuxième, infecté du 27 mars 1906, et traité depuis le 4 avril, a reçu 7 injections de Ph (dont 5 à la suite de l'apparition des parasites dans le sang); il vit encore (témoin mort en 57 jours) et n'a pas montré de trypan. depuis la dernière administration de Ph (15 septembre).

Un autre rat, traité une première fois par l'atoxyl, a rechuté au bout de 22 jours; une nouvelle injection n'avait pas été suivie de rechute, 147 j. plus tard, au moment de la mort de l'animal.

Un 4e rat, traité aussi par l'atoxyl, n'a rechuté qu'au bout de 115 jours, mais la 2e injection a été suivie d'une rechute 21 jours après.

Rappelons (v. le tableau, p. 6), que 2 rats (de moins de 100 grammes), qui n'avaient reçu qu'une seule injection d'atoxyl, n'ont plus montré de trypan. jusqu'au moment de leur mort (121 et 171 jours plus tard).

Les résultats obtenus en s'adressant à la 2e méthode (traitement préventif des rechutes) ont été meilleurs, surtout avec Ph.

Ainsi, avec cette méthode, les 2 rats de notre 3e série (témoins morts en 40 et 71 jours) paraissent avoir été débarrassés définitivement de leurs trypan. L'un n'a jamais eu de rechute et n'avait reçu que deux injections de Ph (la 2e, 35 jours après la 1re). L'autre a eu une rechute 40 jours après la 1re intervention; deux nouvelles injections de Ph, à 18 jours d'intervalle, n'ont pas été suivies de réapparition des parasites. Les 2 rats n'ont rien

montré depuis mai-juin 1906 et sont en excellent état. L'un d'eux (femelle) a eu 3 portées de petits qu'elle a élevés.

Les résultats ont été différents, avec 2 rats de notre 4e série (témoins morts en 84 et 134 jours). Chacun d'eux avait reçu 3 injections successives de Ph, sans attendre les rechutes. Le premier n'en a pas moins montré des trypan. au bout de 106 jours (75 jours après la dernière intervention), le 2e au bout de 66 jours. Nous avons pu avoir raison de ces rechutes par de nouvelles injections de Ph, pratiquées à deux reprises. Le 1er rat n'a pas eu de rechute, mais chez le 2e, une nouvelle est survenue après plus de 4 mois.

Des rats, traités de la même façon par « p. diamidophénylglycoléther + ac. II », « p. diamidodiphénylthiourée + ac. II » et « benzidine + glycine ac. II », ont présenté des répits analogues et même plus longs (117 jours avec la dernière couleur, près de 6 mois avec la seconde).

L'atoxyl nous a donné des résultats analogues à Ph. Citons un rat de la 3e série, qui a eu une rechute 119 jours après une intervention; un autre (4e série), qui a reçu 3 injections successives (la 2e à la suite d'une rechute, la troisième sans attendre) et n'a rien montré depuis le 16 juin 1906.

En résumé, les rats traités avec Ph ou l'atoxyl, par l'une ou l'autre méthode, peuvent être gardés vivants très longtemps (nous en conservons depuis 8 et 9 mois). Certains de nos animaux ne montrent plus de Trypanosomes depuis plusieurs mois (jusqu'à 7); d'autres ont eu des rechutes, l'un après 6 mois d'absence des Trypan. dans le sang périphérique. Ces derniers faits nous ont beaucoup surpris, et nous avons d'abord pensé à des réinfections, au contact d'autres rats, lors des manipulations nécessitées par la prise trihebdomadaire de sang. Force a été, par la suite, après isolement absolu des rats, d'abandonner cette explication. Deux rats neufs, vivant avec des rats infectés et soumis aux mêmes manipulations, ne se sont d'ailleurs jamais contaminés. De plus, le singe 43 (v. tableau, p. 16), qui a montré, à nouveau, des trypan. après 98 jours de répit, a été dans l'impossibilité de se réinfecter.

Les rechutes très tardives sont, à notre avis, d'un haut intérêt. Elles montrent la transformation d'une maladie subaiguë en maladie chronique sous l'influence du traitement, et elles indiquent avec quelle prudence il faut parler de guérisons en matière de trypanosomiase humaine.

Nous sommes persuadés que des résultats, meilleurs encore, pourront être obtenus, avec les rats, par un nombre plus grand d'interventions et que, prévenu désormais, on réussira à empêcher les rechutes tardives.

Singes.

Les observations de nos singes sont données en détail, sous forme de tableaux, dans l'appendice qui termine ce mémoire. Nous chercherons simplement ici à en dégager les résultats principaux.

Dans notre 1re série, nous avons toujours attendu les rechutes avant de traiter à nouveau. Les résultats ont été des plus satisfaisants.

Le singe 54, traité par l'atoxyl à 7 reprises, n'a plus montré de trypan. à l'examen microscopique depuis le 13 juillet 1906.

Le singe 12, soumis à l'aternance Ph-atoxyl (la 1re injection avait été faite avec Cl), n'a rien montré depuis le 30 mai.

Le singe 43 a reçu 5 injections de Ph; il a pu être gardé 8 mois 1/2, n'ayant montré que 5 fois des tryp., dans cet intervalle. Il est mort de pseudo-tuberculose, encore infecté. Nous sommes convaincus que nous aurions réussi à le guérir si son état général lui avait permis de supporter des doses plus fortes de couleur. A noter qu'entre la dernière (4e) et l'avant-dernière rechutes, il s'est écoulé 98 jours.

Quand on attend le retour des parasites, on est obligé à un nombre illimité d'interventions et, partant, dans la pratique, à une surveillance incessante des sujets. Ce sont ces inconvénients qui nous ont amenés, tout naturellement (comme pour les rats), au traitement préventif des rechutes. — En outre, nous avons tenté des interventions initiales de plus en plus tardives.

Atoxyl. — 6 singes (7 en comptant le singe 54 : v. ci-dessus) ont été traités uniquement par l'atoxyl.

Pour 3 singes, l'intervention a été précoce. L'un d'eux (13) a été débarrassé de ses trypan. par une seule intervention. Le 41 et le 51 ont eu des rechutes 31 jours et 19 jours après la 1re intervention; ils ont subi, alors, le 1er 4, l'autre 3 nouvelles injections sans attendre les rechutes; ils n'ont rien montré, le 1er depuis le 22 mai 1906, le second depuis le 5 juin.

Pour 2 singes, la 1re intervention a été plus tardive (infection depuis 12-15 jours, symptomatologie variée). Le singe 36 a eu une rechute au bout de 17 jours; il a reçu, alors, 3 nouvelles injections sans attendre les rechutes; il n'a rien montré depuis le 20 juin 1906. Le singe 16 a reçu, à partir du 29 octobre 1906, 3 injections successives sans attendre les rechutes: il n'a rien montré depuis.

Enfin, le singe 3, traité à une époque contemporaine de la mort de ses témoins, a bien été débarrassé de ses trypanosomes, mais il a succombé 4 jours plus tard.

Ph. — Nous avons essayé de guérir 3 singes (en plus de l'animal 43), par l'emploi exclusif de Ph. L'observation détaillée de ces macaques (61, 14 et 46) montre que, malgré des interventions répétées, nous n'avons pu les débarrasser définitivement de leurs trypanosomes.

L'un des sujets (46), jeune bonnet-chinois peu résistant, a succombé. Les 2 autres sont encore vivants. Ils ont très bien supporté une dizaine d'injections successives de Ph. Mais, bien que nous n'attendions pas les rechutes pour réitérer le traitement, les trypanosomes reparaissaient tous les mois environ. Nous sommes persuadés que nous aurions pu conserver ainsi nos animaux très longtemps, en continuant à recourir uniquement à Ph. Mais nous avons préféré, à un moment donné, faire intervenir l'atoxyl.

L'un des macaques (14) a reçu, après sa dernière rechute (26 octobre), 1 injection d'atoxyl, suivie de 2 injections de Ph; il n'a rien montré depuis 2 mois.

L'autre (61) a reçu, dans les mêmes conditions, 1 injection d'atoxyl (le 29 octobre), puis une de Ph et une 3e d'atoxyl : rien également depuis 2 mois.

Ces expériences démontrent la grande innocuité des injections massives et répétées de Ph. A elles seules, elles peuvent prolonger presque indéfiniment la vie des animaux, sans toutefois provoquer la guérison définitive.

Ph-atoxyl. — L'alternance Ph-atoxyl, dont l'histoire des 2 singes précédents prouve déjà les avantages, a été employée méthodiquement sur plusieurs macaques.

Nous avons déjà noté les résultats obtenus avec le singe 12.

Le singe 37, après 3 injections de Ph (la dernière manifestement insuffisante), a reçu successivement : atoxyl, Ph, atoxyl. Le singe 67 a reçu successivement : atoxyl (rechute au bout de 12 jours), Ph, atoxyl, Ph. — Ces 2 singes n'ont plus montré de trypanosomes depuis le 5 juin 1906. Le singe 67 est mort de congestion pulmonaire le 11 novembre 1906 : son sang n'était plus infectant.

Le singe 22 qui a reçu (intervention assez tardive), à partir du 29 octobre 1906 : atoxyl, Ph, atoxyl, n'a pas encore eu de rechutes. Le singe 95 qui a été traité, à partir de la même date, avec Ph, atoxyl, Ph, a eu une rechute : il a reçu depuis atoxyl et Ph, mais n'a pas évité une nouvelle rechute.

Citons encore les singes 42 et 92, qui doivent, sans doute, le 42 à une 1re intervention, le second à une réintervention trop tardives, d'avoir succombé malgré la disparition de leurs trypanosones.

Le singe 9 est mort après injections successives de p. diamidophénylglycoléther + ac. H, Ph, atoxyl; on ne peut, à notre avis, imputer cette mort ni aux trypanosomes ni aux médicaments.

En résumé, *des singes de nos 3 premières séries* (mars, avril, mai 1906), on peut dire que :

Tous ceux qui ont été traités par l'atoxyl seul, au nombre de 5, n'ont plus montré de trypanosomes à l'examen microscopique depuis des dates variant du 20 avril au 13 juillet.

Tous ceux qui ont été traités par l'alternance atoxyl-Ph (nous exceptons, pour cause, le singe 9), au nombre de 3, n'ont rien montré, non plus, depuis les 30 mai-5 juin.

Les 4 singes, qui ont été soumis au traitement par Ph seul, en ont tiré un très réel bénéfice. 2 ont succombé à des causes indépendantes de la trypanosomiase ou du traitement. Les 2 autres sont en bonne voie, grâce au traitement par l'alternance Ph atoxyl.

Les 3 singes de la *dernière série, traités en temps convenable*, soit par l'atoxyl, soit par l'alternance, sont aussi en excellente voie.

* * *

On remarquera que, dans tout ce qui précède, nous n'avons pas affirmé, une seule fois, la guérison de nos animaux.

Pour ce qui concerne les rats, les faits obligent, on a pu s'en rendre compte, à une excessive prudence, étant données les rechutes tardives que nous avons observées. Nous n'en croyons pas moins qu'une certaine proportion de nos animaux ont réellement guéri : par exemple les 2 rats de la 3e série, traités par Ph, dont il est question plus haut.

Une aussi grande réserve est-elle de mise en ce qui concerne les singes ? Nous ne le pensons pas. La rechute la plus tardive observée s'est manifestée après 98 jours ; elle est unique et concerne un animal non soumis au traitement préventif des rechutes. En regard de ce cas unique, nous placerons *8 singes* (5 traités à l'atoxyl, 3 à Ph-atoxyl). Pour chacun d'eux, 5 mois ou plus se sont écoulés depuis le dernier traitement, sans que les trypan. aient reparu à l'examen microscopique trihebdomadaire. Le sang de 2 d'entre eux (36 et 67), à la dose de 8 c. c., ne s'est pas révélé infectant pour les rats. Tout le sang et le produit de broyage de divers organes d'un autre (13) n'ont pas infecté un chien. Enfin, le sang de tous ces singes a perdu la propriété d'autoagglutination des hématies entre lame et

lamelle; nous attachons à ce caractère, mis surtout en lumière par l'École de Liverpool, une importance assez grande.

Nous avons donc la conviction que *ces 8 singes*, tout au moins, ont été guéris d'une infection qui a tué l'ensemble des témoins avant la fin du deuxième mois, certains même avant celle du premier. Cette conviction ne se changera en certitude, pour ce qui regarde les 6 animaux encore vivants aujourd'hui, que lorsqu'un temps plus long sera passé.

A condition d'être donnés à doses convenables, nos deux médicaments sont bien supportés par les singes. Ph est également bien supporté par les rats; mais l'atoxyl donne souvent lieu, chez ces animaux, à des symptômes nerveux se traduisant soit par une faiblesse du train postérieur (pouvant même aller jusqu'à une paralysie passagère), soit par des phénomènes de tournis (l'animal tournant, en rond, tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre). Nous nous sommes assurés sur des rats non infectés, que ces phénomènes étaient certainement imputables à l'atoxyl.

* * *

Quelles conclusions comportent nos recherches, en ce qui concerne le traitement de l'homme atteint de trypanosomiase ? Elles ne peuvent, évidemment, qu'engager à continuer l'emploi de l'atoxyl, déjà essayé avec succès de différents côtés.

Pour le blanc, c'est le seul de nos deux médicaments qui soit à conseiller, jusqu'à nouvel ordre tout au moins. Mais, pour le noir, chez lequel la coloration violette des téguments demeurera quasi-virtuelle, il nous paraît indiqué de tenter l'alternance Ph-atoxyl qui peut, dans la pratique, se montrer supérieure à l'emploi exclusif de l'atoxyl et qui, si le traitement doit être prolongé, a l'avantage appréciable de ne pas exposer le malade aux accidents, toujours possibles, de l'arsenicisme. Peut-être Ph, employé seul, se montrera-t-il, chez l'homme, comme chez le rat, capable de donner des résultats comparables à ceux de l'atoxyl.

Il ne faut pas oublier que les infections expérimentales des animaux, même des singes, ne reproduisent qu'exceptionnellement la deuxième phase de la maladie humaine, où le parasite a envahi le liquide céphalo rachidien. Seuls, les essais sur

l'homme permettront donc d'être fixés sur la possibilité et les conditions de la guérison à cette période.

En attendant, il conviendra d'être très circonspect, surtout pendant les premières années, quant à l'annonce d'une guérison et, partant, quant à l'interruption du traitement.

Institut Pasteur, 31 décembre 1906.

EXPÉRIENCES FAITES SUR LES SINGES (MACAQUES)

L'observation des survivants a été arrêtée à la date du 31 décembre 1906.

Première série.

Nos d'ordre et noms d'espèces.	Poids au moment de la 1re intervent.	Date de l'inoculation du virus.	Etat de l'infection avant l'intervention		INTERVENTIONS	RÉSULTATS ET REMARQUES
			9 mars	13 mars		
0 *Cynomolgus.*	1170 gr.	3 mars 1906.	0	*r*	6 cgr. Tr., le 13 mars...... 5 — Tr., le 24 mars	Dispar. des Tryp. en 48 h. Rech. au bout de 10 j. (23 mars). Encore dispar. des Tryp. Meurt le 1er avril : ne pèse plus que 860 gr.
12 *Rhesus*	3.060 gr.	—	0	*ar*	30 cgr. Cl, le 13 mars..... 20 — Ph, le 2 avril..... 10 — at., le 18 avril. . . . 20 — Ph, le 16 mai..... 15 — at., le 30 mai.....	Disp. des Tryp. en moins de 40 h. — Rechute au bout de 15 j. ; les Tryp. augmentent vite. Disp. des Tryp. en moins de 48 h. — Rechute au bout de 14 j. : les Tryp. deviennent assez nombr. Rechute au bout de 28 jours. Rechute au bout de 14 jours. Rien vu depuis cette date. Le singe a maigri en juillet et août. Depuis sept. a atteint et dépassé le poids du début. *Vit encore.*
31 *Cynomolgus.*	2.470 gr.	—	0	*r*	Tryp. a. n. le 15 mars..... *Témoin.*	Le singe meurt le 16 mars (13 j.) ; ne pèse plus que 2.070 gr. — Vieux singe peu résistant.
43 *Cynomolgus.*	2.790 gr.	—	0	*r*	28 cgr. Ph, le 13 mars..... 17 — Ph, le 10 avril..... 16 — Ph. le 28 mai..... 19 — Ph, le 13 juillet... 19 — Ph, le 25 octobre.	Rech. au bout de 27 j. — — 48 j. — — 46 j. — — 98 j. L'anim. en bon état en avr., a paru moins b. port. en mai ; il a maigri peu à peu (2,600 gr. en mai et juin, 2.500 en août). En nov., son état s'aggr. ; sorte de paralysie des pattes post. qui restent allongées ; P. = 2.130. Est sacrifié mourant le 16 nov. ; pseudo tuberculose ; rate cas.-pur. Sang inoculé à un chien (20 c. c.) et à un rat (1 c. c.) qui s'infecte au bout de 28 jours.
48 *Cynomolgus*	1.580 gr.	—	0	0	*Témoin.*	Tr. presq. tjs. prés. à partir du 17 mars ; meurt le 13 avril. avec œdèmes des paupièr. (38 j.). Petits abcès de la rate et du foie.
53 *Cynomolgus.*	1.270 gr.	—	*r*	*r*	9 cgr α le 13 mars....... 10 — α le 21 mars	Disp. des Tryp. en 48 h. — Rechute au bout de 8 j. (21 mars) — — en moins de 48 h. — Rech. au bout de 7 j. Les Tryp. devien. rapidement ass. nombr. et nombr. ; le singe a maigri ; il meurt en hypothermie le 31 mars.
54 *Cynomolgus.*	1.220 gr.	—	*r*	*ar*	6 cgr. at., le 13 mars..... 5 cgr. 5 at., le 2 avril..... 6 cgr. at., le 17 avril ..... 7 cgr. 5 at., le 4 mai...... 7 cgr. 5 at., le 16 mai .... 8 cgr. at., le 30 mai. P = 1.200 gr. 8 cgr. at., le 13 juillet.....	Rechute au bout de 19 jours (1er avril). — — 14 — (16 avril). — — 15 — (2 mai). — — 12 — (16 mai). — — 14 — (30 mai). — — 40 — (9 juillet). Rien vu depuis cette date. *Vit encore.* Pèse 1.160 gr.
59 *Cynomolgus.*	1.000 gr.	3 mars.	0	*r*	10 cgr. Cl, le 13 mars.....	Meurt le 2-3 avr. ne pesant plus que 760 gr., et n'ayant pas enc. eu de rech. ; le sang du cœur inoc. à un rat l'infecte.

			Avril. 11, 13 et 16.	Avril. 18	Avril. 20		
13 *Rhesus.*	3.450 gr.	7 avril 1906.	0	*nr*	*r*	17 cgr. atoxyl le 20 avril....	N'a plus jamais montré de Tryp. Le 19 octobre, le singe qui ne pèse plus que 2,800 gr., perd ses poils, paraît « vieux », est sacrifié. Tout son sang (60 c. c) et le broyage de la rate, des ganglions de l'aine, d'un gangl. du pancréas, de la moitié de l'encéphale, sont inoc. dans le périt. d'un chien : n'a enc. rien
37 *Sinicus.*	2.100 gr.	7 avril	0	*nr*	*ar*	20 cgr Ph, le 20 avril..... 14 — Ph, le 22 mai...... 10 — Ph, le 3 juin....... 10 cgr. atoxyl, le 5 juin. 14 cgr. Ph, le 20 juin. 13 cgr. atoxyl, le 4 juillet.	Rechute au bout de 28 j. (18 avril). Rechute au bout de 10 j. (1er juin). Pas de disparition des Tryp. Sans attendre les rechutes. *Vit encore.* N'a pas montré de Tryp. depuis le 5 juin. Le poids, qui en oct. était celui du début, a un peu diminué en décembre.
41 *Sinicus.*	1.220 gr.	7 avril.	0	*r*	*ar*	6 cgr. atoxyl, le 20 avril.... 6 cgr. 5. at, les 22 mai et 8 juin. 6 cgr. atoxyl, le 22 juin. 8 — — le 6 juillet.	Rechute au bout de 31 jours. Sans attendre les rechutes. N'a rien montré depuis le 22 mai. *Vit encore.* Pèse maintenant 1.450 gr.
61 *Cynomolgus*	3.210 gr.	7 avril.	0	*r*	*r*	30 cgr. Ph, le 20 avril..... 18 — Ph, le 11 mai...... 18 — Ph, le 28 mai..... 19 — Ph, le 15 juin...... 22 — Ph, le 1er juillet..... 25 — Ph, le 16 juillet.... 20 — Ph, le 30 juillet.... 19 — Ph, le 13 août..... 19 cgr. Ph, le 21 septembre. 22 — Ph, le 6 octobre...... 15 — atoxyl, le 29 octobre. 25 — Ph, le 9 novembre. 17 cgr. atoxyl, le 21 novembre.	Rechute au bout de 14 jours. — — 17 — — — 18 — — — 16 — — — 15 — (16 juill.). Rech. le 7 sept. Comme les Tryp. ne reparais. plus les j. suivants, on attend le 21 septembre pour intervenir. Rech. le 19 oct.; puis 0 Tryp. jusqu'au 29 oct. où ils sont rares. 0 Tryp. depuis le 29 oct. *Vit encore.* Pèse 3.300 gr.
71 *Cynomolgus.*	1.570 gr.	7 avril	0	*r*	*r*	12 cgr. Cl, le 20 avril..... 7 cgr. atoxyl, le 11 mai.....	Rechute au b. de 14 j. (Abc. à staphylocoques au point d'inoc.) — — 23 j. Le singe est alors très malade. P = 1 290 gr, il meurt le lendemain 4 juin.
72 *Cynomolgus.*	1.340 gr.	7 avril.	0	0	*r*	*Témoin.*	Tryp. non rares le 23, a. n. le 25 : les paupières sont enflées; le singe paraît malade; il meurt dans la nuit du 26-27 avril (19 j. 1/2). P = 1.150 gr. — Rate 18 gr.

ABRÉVIATIONS. — Tryp. *tr*, *r*, *ar*, *nr*, *an*, *n* = Trypanosomes très rares, rares, assez rares, non rares, assez nombreux, nombreux. — P = poids. — Les chiffres des injections de médicaments expriment des centigrammes. — Pour les abréviations des divers médicaments, voir le tableau page 6.

EXPÉRIENCES FAITES SUR LES SINGES (MACAQUES) (*Suite.*)

L'observation des survivants a été arrêtée à la date du 31 décembre 1906.

Troisième série.

Nos d'ordre et noms d'espèces.	Poids au moment de la 1re intervent.	Date de l'inoculation du virus.	Etat de l'infection avant l'intervention.	INTERVENTIONS	RÉSULTATS ET REMARQUES
9 *Rhesus.*	1 960 gr.	4 mai 1906.	0 les 9 et 11 mai, *r* les 14 et 16.	15 cgr. Glyc. Ether le 16 mai... 16 cgr. Ph. le 30 mai (P = 2,050).. 9 cgr. at., le 15 juin (P = 1 790)..	Rechute au bout de 14 jours Paraît malade les j. suiv. : maigrit de plus en plus. Meurt le 25 juin. N'a pas montré de Tryp. depuis le 30 mai.
14 *Rhesus.*	3.530 gr.	4 mai 1906.	0 les 9, 11 et 14 mai, *tr* le 16, *nr* le 18, *ar* le 21, *an* le 23.	27 cgr. Ph, le 23 mai, 20 cgr. Ph, le 8 juin, 16 — Ph, le 22 juin...... 19 cgr. Ph. le 6 juillet, 23 — Ph. le 20 juillet..... 19 cgr. Ph, les 6 et 21 août, 16 cgr. Ph, le 7 septembre... 25 — Ph. le 24 septembre 23 cgr. Ph, le 10 octobre..... 16 cgr. atoxyl. le 26 octobre, 25 cgr. Ph. le 9 novembre, 25 — Ph. le 21 novembre... (P = 3,590)	Tryp. reparaissent le 27 juin, puis 0 jusqu'au 6 juillet. Tryp non rares le 6 août. Tryp. non rares le 17 septembre, 0 les jours suivants. Tryp. rares le 24 octobre, *nr* le 26 octobre. 0 Tryp. depuis le 26 octobre *Vit encore.* P = 3,570 gr.
36 *Sinicus.*	3.280 gr.	4 mai 1906.	0 les 9, 11 et 14 mai, *ar* le 16, 0 le 18, *r* le 21, 0 le 23, *r* les 25 et 28, *ar* le 30 et le 1er juin.	16 cgr. atoxyl, le 3 juin..... 18 cgr. atoxyl, les 20 juin,.... 4 et 20 juillet.	Rechute au bout de 17 jours (20 juin). Plus de Tryp. depuis le 20 juin. *Vit encore.* Poids, 3.700. 2 rats reçoivent péritoine chacun 4 c. c. de sang le 24 octobre : pas encore d'infection.
46 *Sinicus.*	1.160 gr.	4 mai 1906.	0 les 9 et 11 mai, *r* les 14 et 16 mai	9 cgr. Ph, le 16 mai...... 7 cgr. 5, Ph, le 8 juin..... 8 cgr. Ph, le 22 juin...... 8 — Ph, le 6 juillet, 6 cgr. 5, Ph, le 20 juillet	Rechute au bout de 23 jours (8 juin). — — 14 — (22 juin). — — 14 — (6 juillet). Meurt le 13 août amaigri sans avoir montré de Trypan. depuis le 6 juillet.
51 *Cynomolgus*	960 gr.	4 mai 1906.	0 les 9 et 11 mai, *ar* le 14, *tr* le 16.	5 cgr. atoxyl, le 16 mai.... 6 cgr. at. les 5 juin, 20 juin, 7 cgr. atoxyl. le 4 juillet.	Rechute au bout de 19 jours (4 juin). Plus de Tryp. depuis le 5 juin. *Vit encore.* Poids. 940 gr
60 *Cynomolgus.*	1.290 gr	4 mai 1906.	0 jusqu'au 18 mai inclus.	*Témoin.*	Tryp. *r* les 21 et 23 mai ; 0 le 25 : *ar* les 28, 30 et 1er juin ; *ar* les 4 et 6 juin ; *ar* le 8 ; *r* les 11, 13 et 15. Du 18 jusqu'à la mort, le 24-25 juin : 0 Tryp ; stomatite putride ; a surv. 51 j
67 *Cynomolgus.*	1.660 gr. pesait d'abord 1 770 gr.	4 mai 1906.	0 les 9, 11 et 14 mai, *r* le 16, 0 le 18, *nr* le 21, *an* le 23.	7 cgr. 5, atoxyl. le 23 mai.... 13 cgr. Ph. le 5 juin 8 cgr. atoxyl, le 20 juin, 13 cgr. Ph, le 4 juillet.	Rechute au bout de 12 jours (le 4 juin). Plus de Tryp. depuis le 5 juin. Meurt le 11 novembre de congest. pulmonaire. — 2 rats inoc. le 24 oct. chacun avec 3 c. c. de sang n'ont encore rien. 2 rats inoc. le 11 nov. chacun avec 1 c. c. 5 de sang sont morts sans être infectés

			OCTOBRE 17	20	23	25	27	29	31	NOV. 2	5		
3 *Nemestrinus.*	2.000 gr. a pesé 2.360 gr.	10 oct. 1906.	*r*	*ar*	0	0	*r*	*nr*	*an*	*an*	*an*	10 cgr. atoxyl, le 5 novembre.	Meurt le 9 novembre. Les Tryp. ont disparu. Rat reçoit 1 c. c. de sang peu après la mort : n'a encore rien.
16 *Rhesus.*	3.500 gr.	10 oct. 1906.	*ar*	0	0	*an*	*an*	*an*	—	—	—	17 cgr. atoxyl, le 29 octobre. 18 — — le 9 novembre. 17 — — le 21 novembre.	Toujours 0 Tryp. depuis le 29 octobre *Vit encore.* P. 3,520.
20 *Rhesus.*	2.010 gr.	10 oct. 1906.	*an*	0	0	*nr*	*r*	*nr*	*r*	*nr*	—	*Témoin.*	Meurt le 2 novembre ; pas d'autres lésions que celles de la Trypanosomiase. A survécu 23 jours.
21 *Rhesus.*	1.430 gr.	10 oct. 1906.	0	0	0	*tr*	0	*r*	0	*nr*	*r*	*Témoin.*	Tryp. *nr* le 7 novembre, jour de la mort. Avait beaucoup maigri. Commencement de stomatite. A survécu 28 jours.
22 *Rhesus.*	1.650 gr. a pesé 1.730 gr.	10 oct. 1906.	*ar*	*ar*	0	*nr*	*ar*	*an*	—	—	—	8 cgr. atoxyl, le 29 octobre. 14 cgr. Ph, le 15 novembre. 9 cgr. atoxyl, le 28 novembre.	Touj. 0 Tryp. depuis le 29 octob. *Vit encore.* Poids 1,720.
42 *Sinicus.*	3.280 gr. a pesé 3.420 gr.	10 oct. 1906.	*nr*	*r*	0	0	*ar*	*an*	*an*	*nr*	*n*	10 cgr. Ph, le 5 novembre. 16 cgr. atoxyl, le 15 novembre.	(Dose évidem. insuffisante donnée par erreur.) Vu 1 Tryp. les 7 et 8 novembre, 0 les 9, 12 et 14, rares le 15. (P = 3,150). Les Tryp. dispar. mais le singe meurt le 21. 1 rat inoc. le 15 nov. avec 1/4 c. c. sang s'infecte vite ; — 2 rats inoc. chac. avec 2 c. c. le 21 nov. ne sont pas enc. infectés.
92 *Cynomolgus.*	2.030 gr.	10 oct. 1906.	0	0	*tr*	*an*	*ar*	*an*	—	—	—	18 cgr. Ph, le 29 octobre. 17 cgr. Ph, le 9 novembre... 18 cgr. Ph, le 16 novembre... 10 cgr. atoxyl, le 21 novembre	Rechute le 16 novembre. Les Tryp. ne disparaissent pas ; sont nombreux le 21. 0 Tryp. le 23 ; meurt le 25. — Lésions de l'œil.
95 *Cynomolgus.*	1.800 gr. a pesé 1.870 gr.	10 oct. 1906.	*r*	0	*an*	*r*	*an*	*nr*	—	—	—	16 cgr. Ph, le 29 octobre. 9 cgr. atoxyl, le 9 novembre. 16 cgr. Ph, le 21 novembre... 10 cgr. atoxyl, le 30 novembre. 15 cgr. Ph, le 15 décembre... 10 cgr. atoxyl, le 26 décembre.	Tryp. rares le 30 novembre. Rechute le 26 décembre. *Vit encore.* Poids 1,810.

Abréviations. — Tryp *tr*, *r*, *ar*, *nr*, *an*, *n* = Trypanosomes très rares, rares, assez rares, non rares, assez nombreux, nombreux. — P = poids. — Les chiffres des injections de médicaments expriment des centigrammes. — Pour les abréviations des divers médicaments, voir le tableau page 6.

Quatrième série.

ACTION DE LA BILE SUR LE PNEUMOCOQUE

ET DIVERSES AUTRES BACTÉRIES

PAR MM. MAURICE NICOLLE ET ADIL-BEY

(Nous avions entrepris jadis, Adil-bey et moi, une série de recherches sur la *bactériolyse*. Ces recherches se sont trouvées interrompues par mon départ de Constantinople, puis par la maladie et la mort de mon regretté collaborateur. Je me propose de publier, successivement, ce qui peut se rencontrer d'intéressant, soit dans notre travail commun, soit dans les études que j'ai faites ultérieurement à ce sujet. — M. N.)

ACTION DE LA BILE SUR LE PNEUMOCOQUE

Jusqu'aux recherches de Neufeld, on était assez mal fixé sur le pouvoir bactéricide de la bile. On savait, il est vrai, qu'à l'état normal elle détruit le virus rabique et que, recueillie chez les animaux morts de peste bovine, elle possède souvent des propriétés vaccinantes. Pour le reste, les opinions demeuraient partagées; il paraissait toutefois certain que, dans les autopsies humaines, le contenu de la vésicule se montre fréquemment fertile (Létienne, E. Fränkel et Krause...).

Neufeld n'a trouvé la bile réellement active que vis-à-vis du pneumocoque; mais, par contre, cette activité va jusqu'à provoquer la dissolution complète des germes et le liquide clair, ainsi obtenu, jouit d'un pouvoir immunisant facile à démontrer. Voici, en raccourci, l'*expérience type* du savant allemand. On ajoute, à 2 c. c. de culture pneumococcique en bouillon (24 heures à 37°), 0 c. c., 1 à 0 c. c.,2 de bile de lapin. La culture s'éclaircit rapidement et, au bout d'un certain temps, l'examen histologique, l'ensemencement et l'inoculation révèlent l'absence de tout germe visible, vivant, virulent. Les animaux, auxquels on injecte, sous la peau, ces 2 c. c. de solution microbienne, résistent, dix jours après, à 10^{-1} c. c. d'une culture très active.

Neufeld signale encore divers faits, dont nous rappellerons, en quelques mots, les plus intéressants. Les biles d'homme, de

1. Ce travail a été entièrement fait et rédigé, à Constantinople, en 1900-1901.

chien, de chat et de chèvre sont moins bactériolytiques que celle de lapin. La température de l'étuve n'accélère point la fonte des germes, mais le froid la retarde. Les phénomènes se déroulent d'autant plus lentement que la quantité de bile ajoutée a été moins grande. Enfin, les microbes, stérilisés par la chaleur, sont devenus insolubles; certaines races de pneumocoque le seraient déjà à l'état vivant.

Nos études sur la peste bovine nous avaient amenés, de notre côté, à faire agir systématiquement la bile sur les divers microbes et virus, mais n'avions encore pratiqué aucune expérience avec le pneumocoque lorsque parut le travail de Neufeld. Après nous être rendu compte de la parfaite exactitude des observations qu'il contient, nous avons entrepris quelques recherches complémentaires, *in vivo* et *in vitro*, en partant d'un pneumocoque très virulent pour le lapin (10^{-6} c. c., et peut-être moins, suffisaient pour amener rapidement la mort). Ce pneumocoque, sauf indication spéciale, était ensemencé dans le bouillon-Martin stérilisé par filtration et l'on s'adressait à des cultures de 24 heures (37°).

RECHERCHES *in vitro*.

Nous avons, tout d'abord, expérimenté avec la bile de bœuf. Inférieure à celle du lapin, elle éclaircit toutefois rapidement 10 volumes de culture et son pouvoir bactériolytique ne fléchit pas après stérilisation à 115°.

Puis, nous nous sommes adressés à un produit impur, mais d'un usage fort commode, le « choléate de soude » de la Pharmacopée Germanique. Ce produit, aisément soluble, ajouté aux cultures dans la proportion de 10^{-3}, les dissout aussi bien que la bile de bœuf, ajoutée dans celle de un pour dix. Les solutions de choléate [1] sont un peu acides; l'alcalinisation n'augmente point leur puissance bactériolytique. Au titre de 10^{-3} (1 p. de choléate *sec* pour 10^3 de culture), l'éclaircissement demande une heure; au titre de 1/200, il demeure incomplet, à moins de faire intervenir un sel alcalino-terreux, par exemple le sulfate de magnésie (2 0/0). Nolf, dans ses recherches sur l'hémolyse par la bile, avait déjà démontré cette action favorisante des sels alcalino-terreux.

1. Nous avons toujours employé des solutions concentrées (10 0/0), afin d'éviter une dilution marquée des cultures sur lesquelles on voulait agir.

Nous avons voulu, ensuite, comparer le pouvoir bactériolytique du choléate et celui de divers sels biliaires, employés, l'un comme les autres, au titre de 10^{-3}. La dissolution a été rapide et complète avec les sels (sodiques) suivants, que nous énumérons par ordre d'activité décroissante : chénocholate (Grübler), « choléate » (Merck), taurocholate (Grübler), glycocholate (préparé par nous, en suivant une technique un peu spéciale) — elle a été, au contraire, lente et incomplète avec l'hyocholate (Grübler). Ces résultats rappellent, à peu près, ceux que Rywosch a obtenus, en étudiant le pouvoir hémolytique des sels biliaires (R. classe ainsi les sels biliaires, par ordre décroissant : cheno-tauro-hyo-glyco-cholates). Le pneumocoque partage donc, au regard de la bile, la fragilité des hématies.

Les cultures en bouillon-Martin-ascite (1/3 de liquide d'ascite) se montrent moins « solubles » que les cultures en bouillon-Martin; avec 10^{-3} de choléate *sec* on n'obtient, en effet, qu'une bactériolyse incomplète. On pouvait d'ailleurs s'attendre à ce rôle protecteur de la sérosité péritonéale. Les cultures en bouillon sucré (bouillon ordinaire, peptonisé à 2 0/0 et glucosé à 0,5 0/0) précipitent le choléate, à cause de leur forte acidité. Si on les alcalinise, elles se montrent absolument réfractaires à la dissolution, ce qui tient à la présence de substances empêchantes. Il est facile de le prouver, en lavant de telles cultures (alcalinisées ou non auparavant) à l'eau physiologique, par centrifugage. L'émulsion de pneumocoques en eau physiologique, ramenée au volume initial du bouillon sucré, est très facilement dissoute par le choléate.

Lorsque l'on éclaircit (à l'aide de la bile de lapin, de la bile de bœuf, du choléate ou des sels biliaires) les cultures en bouillon-Martin (stérilisé par filtration) ou en bouillon-Martin-ascite, on voit succéder à l'éclaircissement un trouble assez marqué, formé de fins flocons. Le phénomène ne se produit pas avec le bouillon-Martin stérilisé à l'autoclave, ni avec le bouillon ordinaire. Il est assez dificile d'expliquer cette formation de précipités, mais on peut affirmer qu'elle se trouve liée à la présence de matières albuminoïdes coagulables par la chaleur.

Nous avons expérimenté sur un certain nombre de pneumocoques de provenances variées et *tous* se sont montrés également solubles (ou à peu près — nous n'avons point fait de

mesures exactes), par addition de biles (lapin, bœuf), de choléate ou de sels biliaires. Aussi sommes-nous portés à considérer cette solubilité comme constituant le *caractère le plus saillant* du pneumocoque. Elle permet de le diagnostiquer sans plus et *instantanément* et d'en débarrasser aisément et très vite les cultures mixtes où il se trouve mélangé à un ou plusieurs autres germes (nous verrons, en effet, plus loin que ces derniers sont, ou réfractaires, ou infiniment moins sensibles que le pneumocoque à l'action bactériolytique de la bile).

Recherches *in vivo*.

Rien de plus simple que de répéter l'expérience de Neufeld. En la répétant, nous avons noté que, si l'on injecte aux animaux des quantités un peu insuffisantes de « solution pneumococcique », ils succombent à l'épreuve avec un retard marqué sur les témoins et avec une stérilité complète du sang et des organes.

Un lapin de 1,250 grammes reçoit, sous la peau. 2 c. c. de culture de pneumocoque, éclaircie par 2/10 de c. c. de bile de lapin (contact de 24 heures, en tube scellé et fréquemment agité). 10 jours après, on lui inocule, sous la peau, 10^{-3} c. c. de culture (un témoin meurt en 1 jour 1/2) : *aucun effet*.

Un lapin de 1,200 grammes reçoit, sous la peau, 1 c. c. de culture, traitée comme ci-dessus. 10 jours après, on l'éprouve (10^{-3} c. c.) : mort en 5 jours 1/2, avec *stérilité du sang et des organes*.

Mêmes phénomènes, si l'on emploie le choléate de soude, au lieu de la bile de lapin.

Un lapin de 1,820 grammes reçoit, sous la peau, 2 c. c. culture, éclaircie par 2 milligrammes de choléate *sec* (contact de 24 heures, etc.). 10 jours après, on l'éprouve (10^{-3} c. c. sous la peau — un témoin meurt en 2 jours) : *aucun effet*.

Un lapin de 1,700 grammes reçoit, sous la peau, 1 c. c. de culture, traitée comme ci-dessus. 10 jours après, on l'éprouve (10^{-3} c. c.) : mort en 11 jours, avec *stérilité du sang et des organes*.

Les cultures, éclaircies par le choléate, conservent leur pouvoir vaccinant après filtration sur Berkefeld, mais il faut forcer les doses, car la bougie retient une partie des substances actives [1]. Dans nos expériences, 5 c. c. de filtrat représentaient

1. Il nous a semblé que les précipités, dont nous avons parlé plus haut, pouvaient en entraîner aussi un peu.

le volume limite, comme le prouvent les exemples suivants.

Un lapin de 1,800 grammes reçoit 5 c. c. de filtrat (contenant 5 milligrammes de choléate) sous la peau. 10 jours après, on l'éprouve (10^{-3} c. c. — un témoin meurt en 22 heures) : *aucun résultat*.

Un lapin de 2,040 grammes reçoit 5 c. c. de filtrat (contenant 2mgr,5 de choléate et 100 milligrammes de sulfate de magnésie) sous la peau. 10 jours après, on l'éprouve (10^{-3} c. c.) : *aucun effet*.

Un lapin de 1,760 grammes reçoit 5 c. c. de filtrat (contenant 5 milligrammes de choléate) sous la peau. 10 jours après, on l'éprouve (10^{-3} c. c.) : mort en 15 jours 1/2, avec *stérilité du sang et des organes*.

Les cultures, éclaircies par le choléate, peuvent aussi être précipitées par l'alcool (dans lequel les sels biliaires sont solubles). On sèche rapidement le précipité et on le redissout dans le volume initial d'eau physiologique. On passe sur Berkefeld et on obtient un liquide qui immunise, lui aussi, à la dose de 5 c. c. Exemple :

100 c. c. de culture sont éclaircis par 0gr,5 de choléate. Après 3 heures, on précipite par 400 c. c. d'alcool absolu; le précipité est redissous dans 100 c. c. d'eau physiologique et la solution filtrée sur Berkefeld. 5,10 et 15 c. c. sont injectés, à des lapins, lesquels supportent impunément l'inoculation d'épreuve 10 jours après (10^{-3} c. c. — le témoin meurt en 1 jour 1/2).

Lorsque l'on se propose de précipiter, par l'alcool, les cultures éclaircies, on peut employer, pour l'éclaircissement, une assez forte proportion de choléate, ce qui permet d'aller plus vite. L'expérience précédente a été répétée deux fois (avec quelques variantes sans importance), afin de rechercher les rapports qui existent entre la dose de vaccin injectée, d'une part — le moment d'apparition de l'état réfractaire et son intensité, d'autre part.

Nous nous sommes convaincus que l'immunité, conférée par l'administration de 10 c. c. de liquide vaccinant, n'est pas encore complète au bout de 6 jours (les animaux succombent à l'épreuve, mais avec un retard marqué sur les témoins); elle l'est devenue après 8 jours. Si l'on augmente la quantité de liquide actif (40 c. c), les lapins peuvent supporter l'inoculation virulente après 6 jours. Ils ne la supportent jamais, après 3 jours, même en abaissant la dose d'épreuve jusqu'à 10^{-5} c. c; ils ne la supportent plus, même après 8 à 10 jours, quand on l'élève à 10^{-2} c. c. [Dans les deux expériences (ou, plutôt, séries d'expériences) dont nous venons de rapporter les résultats, les témoins ont succombé, en 1 jour à 1 jour 1/2, après inoculation de 10^{-6} c. c.]

Nous avons injecté, sous la peau d'un cheval, à 6 reprises différentes (les : 15. 1. 01. — 18. 1. 01. — 21. 1. 01. — 24. 1. 01. — 26. 1. 01.), un litre de culture pneumococcique éclaircie par le choléate. Le sérum de cet animal (saigné les 4. 2. 01. — et 9. 2. 01.) n'a manifesté aucune activité, à la dose de 5 c. c., vis-à-vis de 10^{-3} c. c. de culture, inoculé au lapin, en même temps, mais dans un point différent du tissu cellulaire sous-cutané.

ACTION DE LA BILE SUR DIVERSES AUTRES BACTÉRIES

Elle peut être résumée en quelques mots. Le coccobacille du choléra des poules et les bacilles morveux et pesteux se montrent bien moins sensibles que le pneumocoque à l'action de la bile ; les sels alcalino-terreux (p. ex. le sulfate de magnésie) favorisent nettement leur dissolution. Le vibrion cholérique, b. typhique, le colibacille, la bactéridie charbonneuse, le b. pyocyanique et le b. de Friedländer sont beaucoup plus résistants encore que les trois bactéries précédentes ; le sulfate de magnésie diminue sensiblement cette résistance. Le streptocoque et le staphylocoque demeurent absolument réfractaires, même en présence des sels alcalino-terreux.

[*Nota.* — D'après Girard (communication orale), le *pseudopneumocoque* de la « maladie du nez » des cobayes (voir nos *Études sur la morve expérimentale du cobaye*) se montre très soluble dans la bile, ce qui contribue encore à le rapprocher du pneumocoque vrai, dont il partage la plupart des caractères.]

Séro-immunité vis-à-vis du "Choléate de soude".

PAR MAURICE NICOLLE.

Rist et Ribadeau-Dumas ont montré, en 1903, que le sérum du lapin, traité par le taurocholate de soude, possédait, à un plus haut degré que le sérum du lapin normal, le pouvoir d'empêcher l'hémolyse (des globules de lapin) par le taurocholate. La même année, Binaghi a constaté que le sérum du chien, traité par la bile de bœuf, immunisait le lapin contre les effets toxiques de celle-ci. Scandaliato, en 1904, a confirmé les résultats de Binaghi, en remplaçant toutefois le lapin par le cobaye ; il a vu, également, que le sérum du lapin, traité par la bile de bœuf, jouissait de la faculté d'immuniser le lapin.

Sans connaître les recherches de Rist et Ribadeau-Dumas ni celles de Binaghi — et parti d'un point de vue très différent de celui de ces auteurs — nous avons fait, en 1903, les deux expériences suivantes :

(1) Un lapin de 2,090 grammes reçoit, quotidiennement, 1 centigramme puis 2 centigrammes de choléate *sec*, par la voie abdominale (le choléate a été constamment employé, dans nos recherches, sous forme de solution à 10 0/0). Lorsque l'animal a reçu 63 centigrammes, on attend 7 jours et on le saigne. Le sérum obtenu ne précipite point les solutions de choléate, même par mélange à parties égales. Mais il immunise le cobaye, comme on va le voir.

Un cobaye reçoit, dans le péritoine, 7cc,5 de *sérum spécifique* : le lendemain, on injecte, dans le péritoine également, 10 centigrammes de choléate *sec : l'animal résiste.*

Un second cob. reçoit, dans le périt., 7cc,5 de *sérum normal de lapin* : le lend., on injecte, dans le périt., 10 centigrammes de chol. sec : *mort* en 8 jours.

Un troisième cob. reçoit, dans le périt., 10 centigrammes de chol : *mort* en 2 jours 1/2.

(2) Un lapin de 2,200 grammes reçoit, quotidiennement, 2 centigrammes de choléate sec dans le péritoine. Lorsqu'il a reçu 134 centigrammes, on attend 7 jours et on le saigne. Le sérum n'est point précipitant, mais il immunise le cobaye, ainsi que le prouve ce qui suit.

Un cob. reçoit, sous la peau, 3 c. c. de *s. spécifique ;* le lend., on injecte, dans le périt., 10 centigrammes de chol. : *l'animal résiste.*

Un 2e cob. reçoit, s. la p., 3 c. c. de *s. spécifique chauffé* (1/2 heure à 55°) ; le lend.. on injecte, dans le périt., 10 centigrammes de chol. : *l'animal résiste.*

Un 3e cob. reçoit, s. la p., 3 c. c. de *s. normal ;* le lend., on injecte, dans le périt., 10 centigrammes de chol. : *mort* en 1 jour 1/2.

Un 4e cob. reçoit, s. la p., 3 c. c. de *s. normal chauffé;* le lend., on injecte, dans le périt., 10 centigrammes de chol. : *mort* en 3 jours.

Un 5e cob. reçoit, dans le périt., 10 centigrammes de chol. : *mort* en 1 jour.

[*Nota.* — Chez 2 *cobayes, atteints de pseudo-tuberculose,* le sérum spécifique n'a pas empêché la mort par le choléate, mais les animaux ont succombé avec un retard marqué.]

Les expériences que nous venons de relater semblent bien démontrer l'existence d'une séro-immunité vis-à-vis du choléate de soude, c'est-à-dire des *sels biliaires.*

Études épidémiologiques et prophylactiques du paludisme.

Cinquième campagne en Algérie — 1906 [1].

Par les Drs Edmond SERGENT et Étienne SERGENT.

PARTIE GÉNÉRALE

Nous suivrons dans notre exposition le plan de nos rapports de 1904 et de 1905 [2].

En l'absence de toute statistique sérieuse, nous dirons d'une façon générale qu'en 1906, en Algérie, l'épidémie de paludisme a été fort grave, surtout dans les deux départements de l'Est, plus grave qu'en 1905 sauf en Oranie, moins grave qu'en 1904, du moins en ce qui concerne le paludisme des hauteurs, bien plus grave qu'en 1902 et 1903.

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

1° Réservoir de virus.

Nous avons fait connaître, depuis 1902, que les indigènes de *race blanche* de Berbérie jouaient le même rôle, pour la conservation du virus paludéen, que les indigènes de *race noire* des régions tropicales pour lesquels le fait a été démontré par R. Koch, Stephens et Christophers, etc. Leurs infections latentes sont marquées presque toujours par la présence du *Plasmodium* dans le sang périphérique, sans accompagnement d'aucun symptôme morbide. Sous ce rapport, les indigènes de Berbérie, d'origine plutôt japhétique que sémitique, se rapprochent des noirs qui peuplent le reste de l'Afrique, et s'éloignent des Européens. Ceux-ci ne présentent pas, en général, le *Plasmodium* dans le sang périphérique sans qu'une réaction fébrile plus ou moins violente n'en résulte. A cet égard, on

1. Campagne dirigée pour le compte du gouvernement général de l'Algérie.
2. *Ann. Inst. Past.*, t. XIX, mars 1905; t. XX, avril et mai 1906.

peut constater chez les Algériens à la 3e ou 4e génération une tendance à l'acclimatement au parasitisme paludéen et à l'atténuation des symptômes fébriles, sans que pour cela les lésions viscérales, et en particulier la splénomégalie et la mélanémie, soient diminuées.

Le réservoir de virus constitué par les Européens est donc surtout infectant aux moments des accès, tandis que le réservoir de virus constitué par les naturels de Berbérie, de race blanche, fournit aux Anophélines, d'une façon permanente, des *Plasmodium*. Le danger d'infection présenté par une localité algérienne est donc en relation avec le nombre d'indigènes infectés qu'elle contient.

Nous avons montré, dans notre précédent rapport, que l'on peut calculer avec rapidité et facilité ce nombre d'infectés en établissant le pourcentage des grosses rates. Celles-ci trahissent le plus souvent la cachexie paludéenne, et, dans la pratique, cet index endémique est proportionnel à celui que l'on obtient par l'examen microscopique du sang, qui demande beaucoup plus de temps.

Technique de la palpation des rates. Notre technique, appuyée sur cinq ans d'expérimentation, (en 1906, de mars en novembre, palpation de plus de 6,700 rates,) préfère la palpation du sujet *debout* et *penché en avant*, comme nous l'avons indiqué dans notre rapport de 1905. Des rates non senties chez un sujet dans le décubitus dorsal sont souvent perçues chez le sujet debout. La position qu'on lui fait prendre fait pour ainsi dire tomber la rate, si elle est tant soit peu hypertrophiée, dans la main du médecin.

Les tableaux suivants résument nos recherches d'index endémiques par les rates, en 1906, d'une part avant les chaleurs, d'autre part pendant et après les chaleurs.

INDEX DU DÉBUT DES CHALEURS

	NOMBRE de sujets examinés	NOMBRE de grosses rates	Pourcentage
De 0 à 5 ans	752	177	23,5
De 5 à 10 ans	1246	413	33,1
De 10 à 15 ans	859	360	41,9
Total de 0 à 15 ans	2857	950	33,2
Total au-dessus de 15 ans	1089	319	29,2
Total	3946	1269	32,1

Ces rates ont été palpées, du 1[er] mars au 1[er] août, dans les localités suivantes :

Département d'Alger : Montebello, Marengo, Bourkika, Ameur-el-aïn, El-Affroun, Mouzaïaville, La Chiffa, Attatba, Oued el-Alleug, Berbessa, Coléa, Boufarik, Blida, Beni-Méred, Birtouta, Souma, Aïn-Gouthnia, Brazza.

Département de Constantine : Biskra (Bab-darb, Bab-fath, Ras-el-Gueria), Mondovi, Gambetta, Lamy, Aïn-Abid, Azel-Sakrania.

Département d'Oran : Tourville (faubourg d'Arzew), Aïn-Tedeles (douars Ouled-Hadri, Bou-Aza, Si-Djelloul), domaine de l'Habra.

INDEX RELEVÉS PENDANT ET APRÈS LES CHALEURS

	NOMBRE de sujets examinés	NOMBRE de grosses rates.	Pourcentage.
De 0 à 5 ans	661	165	24,9
De 5 à 10 ans	827	306	37,0
De 10 à 15 ans	610	255	41,8
Total de 0 à 15 ans	2098	726	34,6
Total au-dessus de 15 ans	675	245	36,2
Total général	2773	971	35,0

Ces rates ont été palpées, à partir du 1[er] août jusqu'au 7 décembre, dans les localités suivantes :

Département d'Alger : Montebello, Marengo, Bourkika, Ameur-el-aïn, Mouzaïaville, El-Affroun, La Chiffa, Attatba, Oued-el-Alleug, Berbessa, Coléa, Boufarik, Blida, Beni-Mered, Birtouta, Souma, Victor-Hugo, Liébert, Aïn-el-beïda.

Département de Constantine : Biskra (Bal-darb, Bab-fath, Ras-el-guéria), Mondovi.

Département d'Oran : douars d'Aïn-Tedeles (Ouled-Ameur, Bou-Khouça), domaine de l'Habra, village de Sainte-Léonie.

Le nombre total des sujets dont la rate a été palpée en 1906 est de 6719 (2773+3946).

1. — Les *examens microscopiques de sang* que nous avons pratiqués en

1906 ont été motivés le plus souvent par la nécessité de vérifier le diagnostic de paludisme. Nous les avons opérés, en particulier, toutes les fois qu'il s'agissait de splénomégalie accompagnée d'anémie profonde, et de grande maigreur, de façon à dépister les cas possibles de Kala-Azar (une cinquantaine de cas). Nous avons toujours trouvé, dans ces cas, le parasite de la tierce maligne. Nous n'en signalerons qu'un, dont le parasite présentait un aspect particulier : Enfant indigène, de 13 ans environ, originaire de Bogbari. Maigreur extrême, physionomie souffreteuse, gencives excoriées, rate à l'ombilic. Dans le sang périphérique, en dehors de gamètes semi-lunaires, on trouve des petites formes annulaires endoglobulaires, remarquables par la grosseur de

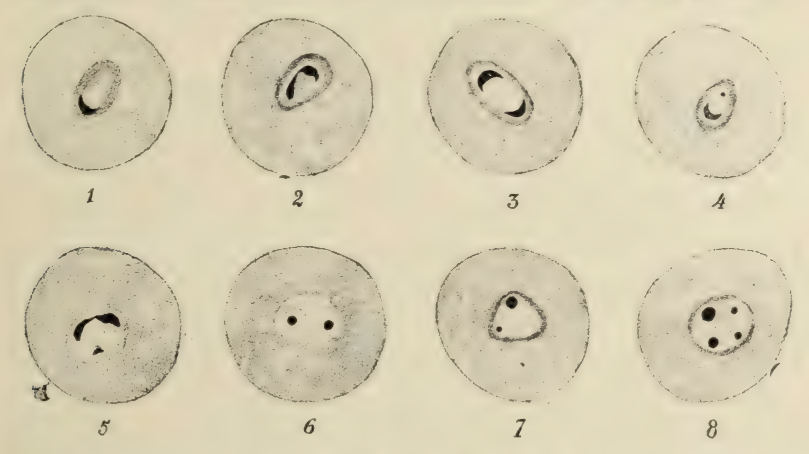


Fig. 1. — Aspect particulier des petites formes de la tierce maligne chez un enfant indigène.

leur noyau, coloré en rouge opaque, et le peu d'abondance du protoplasma. Ce noyau présentait une grande variété de forme. Rarement rond, le plus souvent allongé, les deux extrémités étant renflées, inégalement. Souvent aussi, séparé en deux portions inégales fort éloignées l'une de l'autre. Le plus souvent, le protoplasma n'est pas coloré (sur des préparations bien réussies, comme en témoigne l'examen de la coloration des leucocytes, et en particulier du protoplasma des grands mononucléaires). Il en résulte que les deux portions du noyau sont isolées dans une vacuole claire, et rappellent le *Piroplasma donovani*. Plusieurs jours de suite, le sang de cet enfant montra ces mêmes formes annulaires, en même temps que des gamètes semi-lunaires, mais jamais de plus grosses formes. La prise de 1 gr. 20 de bichlorhydrate de quinine, en 6 jours (20 centigrammes *pro die*) firent disparaître ces jeunes formes.

2. — Les corps en *pessaires* et ceux *en demi-lune* ont été encore souvent rencontrés dans le sang des cas de cachexie.

3. — *Action de la quinine sur le Plasmodium*. Nous avons toujours vu régulièrement l'injection sous-cutanée de quinine détruire les petites formes annulaires endoglobulaires. Le protoplasma entre très vite en lysis, le noyau résiste plus longtemps, et encore après huit heures apparaît comme un grain

rouge punctiforme. Les gros schizontes endoglobulaires et les gamètes semi-lunaires n'étaient pas modifiés par l'injection de quinine, dans les cas que nous avons observés.

4. — *Hémoglobinurie*. Les foyers principaux que nous connaissons à l'heure actuelle sont : Aïn-Touta (Mac-Mahon), vallée de la Seybouse [(environs de Guelma, Mondovi (observations du Dr Marbot)], plaine de la Macta (d'Arzew à Aïn-Tedeles). Le nombre de cas est proportionnel chaque année à la gravité de l'épidémie. Le Dr Lemaire nous a montré à Alger un cas fort grave chez un matelot qui n'a jamais quitté les ports du littoral Est, et n'a jamais pris de quinine. Nous avons vu nous-mêmes, il y a plusieurs années, un cas chez un enfant de Guyotville, localité très peu fiévreuse à l'ouest d'Alger, sur le bord de la mer.

5. — Nous signalons des *macules* cutanées rougeâtres-violacées, observées sur deux enfants paludéens porteurs de grosses rates [un enfant espagnol de Tourville (Oran) et une fillette indigène de Bourkika (Alger)]. Ces macules, non saillantes, de 1 à 3 millimètres de diamètre, ne s'effaçant pas sous la pression du doigt, apparaissent et disparaissent sans régularité, sans que nous ayons encore pu établir leurs rapports avec les accès de fièvre. Elles se montrent sur tout le corps (chez la fillette, surtout au cou).

6. — *Importance de l'arrivée des fiévreux*. A Montebello, le réservoir de virus sédentaire est soigneusement quininisé depuis le printemps : il se trouve accru tout d'un coup en septembre par l'arrivée de 36 vendangeurs kabyles dont 5 porteurs de grosses rates, qui dorment en plein air, près des maisons de colons, durant plusieurs semaines. Le Dr Babilée, de Douéra, nous signale qu'en 1904 dans une ferme V., du Sahel algérois, des maçons infectés dans la plaine viennent faire leurs rechutes : une quinzaine de jours plus tard, le fermier jusque-là indemne contracte le paludisme.

7. — *Importance du voisinage des indigènes*. A Crescia (Sahel algérois), le Dr Babilée a remarqué que les indigènes vivent agglomérés sur un plateau, loin des fermes européennes qui sont bâties au creux des vallées, près des gîtes : pas de paludisme. Bou Roumi, hameau proche d'El Affroun (Mitidja), les Quatre-Chemins, hameau de la commune de Boufarik, sont entourés de gîtes, mais ne possèdent pas d'indigènes : pas de paludisme.

2° Gîtes à Anophélines.

1. — *Pour l'influence de la température et des pluies* sur les gîtes des Anophélines et la marche du paludisme, voir plus loin l'expérience de Montebello. Les chaleurs ayant été tardives dans toute l'Algérie, l'épidémie saisonnière n'a éclaté qu'à partir de la deuxième semaine d'août. L'épidémie a été en général plus forte que celle de 1905, sauf dans l'Oranie, elle ne s'est pas étendue aux hauteurs comme celle de 1904, et a subi une recrudescence automnale, à la suite des chaleurs exceptionnelles d'octobre.

2. — *Paludisme des hauteurs*. Nous proposons, pour expliquer la violente épidémie de paludisme qui a sévi en 1904, sur des montagnes élevées qu'épargne d'ordinaire le fléau, l'hypothèse suivante : le refroidissement nocturne de l'air sur les hauteurs doit y compromettre d'habitude l'évolution du

Plasmodium dans le corps des Moustiques. On sait, depuis les travaux de Grassi, Schoo, Janeso, qu'un certain minimum de température doit être dépassé pour que cette évolution soit possible (16° environ). En temps normal, seuls les Anophélines qui se sont réfugiés dans des demeures humaines, où nous créons un climat artificiel, selon l'expression de R. Koch, peuvent être infectés jusqu'à la formation de sporozoïtes, dans les hautes régions où le thermomètre descend quelques heures de nuit au-dessous de 16°. Si l'on suppose maintenant que souffle un de ces sirocos de 9 jours bien connus en Algérie, où on ne les voit pas revenir tous les ans, on peut dire que pendant 9 jours, sur tout le pays balayé par le vent chaud, la température reste élevée sans oscillation bien marquée. Cette période de temps est suffisante pour que l'évolution du parasite s'achève chez le Moustique, et si l'année à siroco a été en même temps une année pluvieuse qui a gonflé les sources, les oueds, tous les gîtes à Anophélines, il se trouve qu'un nombre de Moustiques plus grand que le nombre normal est exposé à être infecté d'une façon exceptionnelle.

Or l'eté 1904 a succédé à un hiver très pluvieux et a été traversé par plusieurs coups de siroco.

3. — *Gîtes printaniers.* Nous insistons sur l'importance des gîtes printaniers, que nous avons signalée déjà dans nos rapports antérieurs. En une foule de localités de la vallée du Chéliff, de la plaine de la Macta, du Sahel algérois, à Aïn-Mokra (près du lac Fezzara), des gîtes éphémères, séchés par les premières chaleurs, donnent naissance durant quelques semaines de printemps, aux multitudes d'Anophélines qui infestent le pays jusqu'au printemps suivant. Ces observations, qui se multiplient chaque année, démontrent la grande importance des mesures antilarvaires précoces, sur lesquelles nous reviendrons.

4. — *Gîtes peu étendus, mais proches.* On a souvent tendance à accuser les grandes collections d'eau, imposantes par leur masse, de donner le paludisme, dans les pays malsains. Ainsi les habitants de Tourville-Arzew incriminent le barrage de l'oued Magoun comme principal facteur de leur paludisme. En réalité, ce barrage, situé à 3 kilomètres de l'agglomération, n'a aucune influence sur les fièvres qui y sévissent. Comme l'a montré le succès des mesures antilarvaires de 1906, les Anophélines qui propagent le paludisme à Tourville sortent de l'oued peu important qui traverse ce faubourg. Une grande rivière n'est un gîte que près de ses rives, sur une largeur qui ne dépasse pas celle d'un ruisseau.

Des quantités de Moustiques sortent à Mondovi de quelques ornières, à Gambetta des « trous de sabot » imprimés par les bestiaux, près d'une source envahie par les herbes.

5. — *Paludisme variant dans une même région suivant l'importance des gîtes.* Dans le département de Constantine, Aïn-Abid jouit de la réputation d'être salubre, au milieu d'une région malsaine. Pourtant le pourcentage des grosses rates chez les indigènes atteint 12, 5 0/0 (sur 48 sujets). Si l'on compare ce village à son voisin Aïn-Regada, où les Européens sont très éprouvés par les fièvres, on relève comme différence qu'Aïn-Abid n'a comme gîtes que quelques fossés mal entretenus, abreuvoirs ou puits abandonnés,

tandis qu'Aïn-Regada est situé près d'un oued, dont les gîtes sont plus considérables et plus constants.

6. — *Forêts en plaine.* Nous avons eu à donner notre avis sur l'influence possible sur le paludisme du défrichement de forêts situées en plaine, dans la région de Coléa. En l'état actuel, ces forêts cachent sous leur feuillage une grande étendue de gîtes,mis ainsi à l'abri de l'évaporation par la chaleur solaire et par les vents. Les débris végétaux qui s'entassent feutrent le sol et le rendent imperméable ; les gites qui ne seraient que printaniers ou seraient bus aussitôt que formés, en pays découvert, se perpétuent ici. Les Insectes adultes sont de même protégés par les frondaisons contre le soleil, le vent et la pluie. Les forêts des plaines sont donc très favorables à la formation et à l'entretien des gîtes; leur transformation en terrains de culture ou même en pâturages serait un bienfait, d'autant plus que le sol défriché, ayant acquis une valeur plus considérable, des sacrifices pourront être consentis pour le sillonner de fossés de dessèchement, que le peu de rapport d'une forêt ne permet pas de creuser. On peut noter ici que la crainte des fièvres, qui s'associe d'habitude à l'idée de défrichement, de remuement de terre vierge,s'explique par ce fait que si l'on introduit sans précaution au milieu de cette forêt, gîte monstrueux d'Anophélines, un certain nombre d'ouvriers dont les uns seront des anciens infectés (réservoir de virus) et les autres des indemnes (sujets d'expérience), on verra, les 3 facteurs du paludisme étant réunis, une épidémie éclater.

Il est bien entendu que les forêts des hauteurs,outre qu'elles ne cachent pas autant de gîtes, sur un terrain accidenté, ont l'immense avantage, au point de vue du paludisme, de régulariser le régime des eaux dans les bassins de réception.

7. — *La mise en culture du sol fait reculer le paludisme.* Ce fait est explicable par la raison que toute culture, à part de très rares exceptions (riz, cresson), n'est possible qu'en l'absence de stagnation de l'eau. D'autre part, le défoncement du sol le rend plus perméable. Un exemple remarquable de recul du paludisme à la suite de défrichement et de plantations de vignes, toutes autres conditions restant égales d'ailleurs, nous a été signalé, par le Dr Babilée, dans le Sahel d'Alger (entre Crescia et Saoula).

8. — *Écuries, abris préférés des adultes.* Au moins dans le Tell et sur les Hauts-Plateaux.

9. — *Longueur du vol et transport.* Nous avons pu nous convaincre une fois de plus qu'à Montebello, dans un pays peu peuplé, les adultes ne dépassent pas 1,500 mètres. A Tourville-Arzew, pays très peuplé, une ferme distante de la zone protégée de 350 mètres à vol d'oiseau est elle-même à environ 200 mètres du gîte non pétrolé : elle a été, tout l'été, remplie d'Anophélines qui n'ont jamais franchi les 350 mètres les séparant des maisons de la zone protégée.

Nous avons vu un *Anopheles maculipennis* faire 320 kilomètres entre Alger et Oran, sur la vitre d'un wagon. Ces transports doivent expliquer un certain nombre de cas contractés en localités saines, en particulier dans les ports.

10. — *Dates d'apparition et de disparition des larves.* Dans la Mitidja

(Tell), les premières larves d'Anophélines ont été pêchées dans les premiers jours de mars, et les dernières, dans la première quinzaine de novembre. Dans l'intervalle, elles ont toujours été trouvées en quantités égales.

11. — *Rapport entre les dates de l'apparition des adultes et de l'éclosion des cas de première invasion.* Nous avons relevé un intervalle de 15 jours au minimum entre ces deux dates : Ferme Mahé près de Montebello, ferme B. près de Tourville, centre de Brazza, ferme de Tekteka (Mitidja).

12. — *Ennemis des Moustiques* Les *Poissons* maintiennent indemne de larves la partie centrale, découverte, des mares laissées dans les lits d'oueds. Les larves ne peuvent alors subsister qu'au milieu des herbes, ou sur les bords peu profonds, où les Poissons ne peuvent les poursuivre.

On voit souvent au crépuscule des *Libellules* fondre sur les essaims d'Anophélines mâles qui oscillent et dansent près des cours d'eau aux heures du soir. Elles doivent en détruire un grand nombre ; cependant, bien qu'elles soient très nombreuses au-dessus des canaux du lac Halloula, les larves de Moustiques y foisonnent tout l'été.

13. — *Observations sur les Anophélines d'Algérie.* Nous avons pu, en 1905 et en 1906, élever des œufs d'*A. maculipennis* pondus en cage, jusqu'au stade imago. Nous sommes arrivés à ce résultat en renouvelant l'eau des aquariums à travers la couche de terre du fond, comme par des sources à débit insensible.

Pyretophorus myzomyifacies. Anophéline prédominant dans les vallées de l'Atlas, n'existe pas dans les plaines qui s'étendent au pied de cette chaîne. Cependant nous avons retrouvé cette espèce, émigrée le long de l'oued Chiffa qui descend de ces montagnes. Elle a ainsi traversé la plaine sur une longueur de 15 kilomètres, sans s'écarter du lit de l'oued.

P. myzomyifacies est peu domestique, et l'on a souvent les plus grandes peines à retrouver, le jour, les adultes qui assaillent les habitations la nuit.

Anopheles algeriensis est apparu au lac Halloula au printemps, avant *A. maculipennis*, puis a disparu.

Anopheles maculipennis. Le pourcentage des infectés en pays paludéen a été de 4 0/0 en 1906.

ETUDES PROPHYLACTIQUES

Difficultés de la prophylaxie du paludisme.

En dehors de celles que nous avons signalées dans nos précédents rapports, nous devons insister sur la profusion et la ténacité des préjugés qui s'opposent à l'application des principes rationnels de l'hygiène antipaludique.

C'est ainsi qu'il est d'opinion courante que la quinine fait grossir la rate ; nous avons étonné bien des colons en leur faisant palper, chez les indigènes qui les entouraient, des rates beaucoup plus volumineuses que les leurs propres : et pourtant ces indigènes n'avaient jamais pris de quinine !

La quinine ferait avorter : à la gare de Saf-Saf, trois jeunes femmes enceintes refusaient obstinément le médicament, malgré leurs violents accès.

L'idée du traitement préventif n'a pas encore acquis droit de cité dans l'opinion publique, et l'on ne peut encore admettre, comme chose courante, de se médicamenter avant d'être malade plutôt qu'après. Nous citerons, à titre d'exception et d'exemple, le cas de l'ancien maire d'Oued-el-Alleug, qui a atteint un âge avancé, dans une région extrêmement malsaine (près des forêts de Coléa dont il a été question plus haut). Ce colon était connu dans le pays pour son habitude originale d'absorber tous les jours un peu de quinine.

Un certain nombre de personnes refusent la quinine, dans les localités où l'on institue une quininisation régulière générale, simplement pour affirmer leur indépendance.

Enfin nous tenons d'un surveillant de travaux qu'il sera très difficile de donner l'habitude aux entrepreneurs de quininiser régulièrement leurs ouvriers : la seule annonce de la distribution gratuite de quinine discrédite un chantier.

La première objection que font les colons à l'énoncé du rôle des Anophélines dans la propagation du paludisme est celle-ci : chez eux ils ne sentent pas de piqûres de Moustiques, et en réalité ils sont vaccinés contre la substance irritante inoculée par les piqûres des Moustiques, d'autant plus que la morsure des Anophélines est très souvent indolore. Ces mêmes colons, dans leurs rares voyages aux centres urbains, passent souvent des nuits blanches à l'hôtel : il y sont en effet harcelés par des Culicines, et, sur le littoral, surtout par le *Stegomyia fasciata*, contre les piqûres desquels ils ne sont pas vaccinés et qui font d'ailleurs des piqûres très cuisantes. Ils concluent qu'à la ville, non paludéenne, il y a plus de Moustiques qu'à la campagne. C'est pourquoi il faut bien insister sur l'attribution de la propagation du paludisme aux Anophélines, et mettre hors de cause les autres Moustiques, plus désagréables pourtant, en général, que ces Anophélines.

Procédés de la prophylaxie.

1° *Éloignement du réservoir de virus, et des gîtes.*

Nous avons signalé dans nos précédents rapports la possibilité, dans certains cas, de la prophylaxie par déplacement des habitations estivales, et leur transport hors du rayon d'action des gîtes. C'est d'ailleurs là une très vieille mesure hygiénique, qui commande l'exode annuel des Corses de la côte orientale, des nomades algériens des oasis de l'Oued-Ghir et de Touggourt, et qui a toujours conseillé le choix des lieux élevés pour les maisons en pays paludéen.

Le Dr Guérard a signalé qu'à La Calle, quelques familles indigènes qui, en été, élèvent leurs gourbis sur des collines assez hautes, pour échapper au

paludisme des bas-fonds, sont obligées de redescendre dans la vallée malsaine, par le service forestier qui applique les règlements interdisant l'habitat trop proche des terrains boisés. Nous avons attiré l'attention de M. le Gouverneur général sur l'intérêt qu'il y aurait à concilier la rigueur administrative avec les exigences de l'hygiène, dont ces indigènes s'étaient si bien rendu compte.

A part de tels faits, qui restent exceptionnels, il est impossible de préconiser l'éloignement des gîtes comme mesure souvent applicable, pour la population indigène. En effet le territoire laissé au plus grand nombre des tribus est trop restreint, en raison surtout de l'accroissement continuel de leur population, pour que les douars puissent y évoluer. Le rachat des propriétés européennes par les indigènes, qui s'effectue de plus en plus, n'est pas un palliatif de cet état de choses, car elle morcelle le territoire et force les propriétaires à un séjour encore bien plus stable que sur les étendues indivises. Les sédentaires construisent leur gourbi près des terrains de culture, qui sont toujours dans les bas-fonds et près des sources, qui sont en même temps des gîtes.

Les nomades pratiquent déjà, comme nous l'avons signalé en 1905, l'éloignement des gîtes, ils sont d'ailleurs beaucoup moins éprouvés par les fièvres que les sédentaires.

L'éloignement du réservoir de virus (indigènes) est également difficile à obtenir en général. Les colons ont besoin d'avoir leurs domestiques et leurs ouvriers sous la main, dans l'intérêt du travail et dans un but de sécurité. Près des maisonnettes isolées de la Cie du Bône-Guelma sont toujours placés, en Tunisie, des gourbis de gardiens indigènes.

2° *Quininisation.*

Dans les centres où nous avons procédé à la quininisation régulière de la population indigène, nous avons employé en 1906 des quininisateurs européens, recrutés sur place, parmi lesquels plusieurs nous ont rendu de bons services : un garde champêtre, la femme d'un secrétaire de mairie, le mari d'une institutrice, un adjoint spécial (laitier). Il est à noter que la quininisation par une femme, très bien accueillie dans les gourbis par les femmes et les enfants, a très bien réussi.

La quininisation par un Européen représente le meilleur procédé pour amender un réservoire de virus. Mais elle coûte fort

cher (450 à 500 francs pour la saison) et devra être réservée aux localités très paludéennes.

Nous avons employé uniquement des dragées de bichlor-



Fig. 2. — Quininisation des enfants indigènes (réservoir de virus).

hydrate de quinine de 0,20 centigrammes, du genre des dragées de l'État italien. Ces dragées ont été admirablement acceptées. Le quininisateur femme d'Attatba, Mme V., est arrivée à les faire prendre à des enfants de 15 mois.

Après cette mise à l'essai datant de deux ans, l'unanimité a été tellement complète en faveur des dragées, que nous avons demandé à M. le Gouverneur général de faire acheter en dragées de bichlorhydrate les 9/10 de la quinine que l'État fournit aux communes de l'Algérie.

Pour les enfants qui ne peuvent pas avaler les dragées, la mise en suspension de la poudre de quinine dans l'huile d'olives, que nous avons préconisée, a été très bien acceptée à Marengo et à Attatba.

Nous avions déjà publié notre procédé de mise en suspension de la

quinine dans l'huile (ces *Annales* avril 1906) lorsque nous avons eu connaissance d'un procédé analogue recommandé par le Dr Bordes (de Bordeaux). [*Semaine médicale*, 1903, p. 76, et 1906, p. 318.] Notre mode de préparation se distingue de celui du Dr Bordes en ce que nous nous gardons de mêler au mortier la quinine à l'huile : c'est perdre là un des principaux avantages de l'incorporation dans l'huile, qu'il faut faire avec précaution, entre deux couches d'huile, sans aucun mélange ni trituration et au moment même de l'emploi, pour masquer d'une façon absolue le goût de la quinine.

Le procédé, courant en Algérie, de l'administration de la poudre de quinine dans du papier à cigarettes, a l'avantage, pour les adultes, de pouvoir être pratiqué partout, et de remplacer à peu de frais les cachets si fragiles. Le fait de l'indigestibilité du papier à cigarettes n'a pas plus d'importance que celle d'une feuille de salade par exemple.

Nous avons donné, en Oranie, en 1906, 20 centigrammes par jour pour un adulte ou un enfant ; dans la Mitidja, 20 centigrammes un jour, 40 le lendemain, etc. Les résultats ont été pratiquement analogues.

L'efficacité de ces doses, à titre curatif, chez les indigènes, ressort de la lecture de la 2e partie de ce rapport, le contrôle étant très facile par la palpation des rates, opérée par la même personne, et par comparaison avec des témoins. Nous citerons en particulier l'effet remarquable de minimes doses chez des indigènes qui n'avaient jamais pris de quinine. On assiste à de véritables transformations à la suite d'ingestion de quelques dragées quotidiennes. Une femme de Tourville dont la rate atteignait au printemps le pubis, suivant très régulièrement la cure quinique quotidienne, vit sa rate redevenir normale en un été.

Nous devons rapporter un cas d'inefficacité de la cure préventive journalière à petite doses, chez un agent des chemins de fer du Bône-Guelma, arrivant à Duvivier, de Corse, se disant indemne, et assurant avoir suivi le traitement prophylactique indiqué : il contracta cependant le paludisme.

Le jeûne du Ramadan (qui a commencé à la mi-octobre) n'a pas empêché la quininisation, que l'on a pu faire dans les cafés maures après la tombée de la nuit. D'ailleurs ont été quininisés surtout les enfants, qui n'observent pas le jeûne.

Le tableau qui suit montre que chez les *traités* par la cure

quotidienne (439 sujets examinés avant et après la campagne, sur environ 2.000 personnes quininisées), **le nombre de rates améliorees (27,3 0/0 diminuées, 11,5 0/0 guéries) est bien supérieur à celui des rates augmentées (8.2 0/0).**

L'inverse a lieu **chez les** *témoins* (567 sujets) : **3,5 0/0 diminuées 2,7 0/0 guéries, contre 32,6 0/0 augmentées.**

A. *Traités (cure quotidienne).*

DU PRINTEMPS A L'AUTOMNE 1906, LES RATES SONT :

			HYPERTROPHIÉES		
	D'hypertroph. redevenues normales.	Restées normales.	Diminuées.	Restées de même grosseur.	Augmentées
Tourville	20	67	22	5	2
Aïn Tedeles (Ouled-Hadri, Bou-Aza, Si-Djelloul)	15	23	64	21	8
Montebello	9	38	13	16	20
Marengo (quart. de l'abattoir)	3	25	1	2	3
Attatba (quartier ouest)	2	19	12	6	3
Chiffa (b riquetterie Quirici)	2	9	8	1	1
Total = 439 sujets	51 (11,5 0/0)	181(41, 2 0/0)	120 (27,3 0/0)	51 (11,5 0/0)	36 (8, 2 0/0)

4 personnes traitées (0,9 0/0) sont mortes à Attatba (pas de diagnostic médical).

B. Témoins (pas de cure quotidienne).

DU PRINTEMPS A L'AUTOMNE 1906, LES RATES SONT :

	D'hyperthr. redevenues normales.	Restées normales.	HYPERTROPHIÉES		
			Diminuées.	Restées de même grosseur.	Augmentées.
Sainte-Léonie.	»	18	2	7	22
Ferme-Blanche.	3	32	1	2	13
La Planète.	»	3	»	2	9
Aïn-Tedeles (Bou-Khouça, Ouled Ameur).	1	2	3	13	13
Marengo (Quart. nord., ouest et sud).	2	33	2	3	16
Attatba (Quartier est).	2	16	»	1	6
Bourkika.	»	20	1	2	5
Ameur-el-Aïn.	»	23	»	3	2
El-Affroun.	3	48	1	2	5
Mouzaïaville.	1	51	»	»	2
Chiffa.	»	12	»	5	12
Mondovi.	2	10	3	14	23
Biskra (Bab-darb et Bab-fath.	»	9	7	6	48
Biskra (Ras-el-Gueria).	»	12	1	7	25
TOTAL : 567 sujets.	16 (2,7 0/0)	289 (49,4 0/0)	21 (3,5 0/0)	68 (13,3 0/0)	191 (32,6 0/0)

Parmi les témoins, 14 personnes (2,4 0/0) sont mortes (pas de diagnostic médical) à Biskra.

3° *Mesures antilarvaires.*

Les *grandes mesures antilarvaires* sont parfois totalement inefficaces si elles ne sont pas complétées par de petites mesures. Nous avons constaté en 1906 que les grands fossés de dessèchement creusés récemment dans la région d'Aïn-Tedelès n'ont absolument rien changé aux principaux gîtes à Anophélines de la région, et que ces grosses dépenses n'ont rendu aucun service à l'assainissement.

1. — Les *petites mesures* doivent être très précoces, en raison de l'importance prédominante des gîtes printaniers. En 1906, les premiers faucardements et pétrolages ont eu lieu à Montebello en fin avril, et cette hâte a été très favorable à l'heureuse issue de la campagne.

2. — Les faucardements et désherbages, sans lesquels les pétrolages seraient impossibles, ne suffisent pas seuls cependant, mais demandent toujours à être suivis de pétrolages.

3. — Ceux-ci ne doivent être pratiqués, sur les eaux poissonneuses, que près des bords, et dans les parties herbeuses, les Poissons suffisent à détruire les larves dans les parties découvertes.

4. — Les pétrolages doivent parfois être répétés tous les 8 jours : quand par exemple les eaux peuvent amener d'amont des larves déjà âgées ou des nymphes : tel est le cas des canaux de la gare de Fortassa.

5. — Les irrigations bien faites sont très utiles à l'antipaludisme : elles enlèvent de l'eau aux gîtes, qui diminuent, par suite, d'importance, et, si elles sont bien conduites, elles font boire toute cette eau à la terre de culture sans en laisser stagner : cas des champs de pastèques de Montebello en 1906.

6. — Nous citerons, comme un exemple de ce que nous appelons petite mesure antilarvaire, c'est-à-dire coûtant peu de travail, et très efficace : un petit barrage de terre, de quelques mètres de longueur, pour empêcher le reflux de l'eau, d'un canal à berges accores, sur un plan incliné où elle aurait formé une queue de marais dangereuse. Ceci imaginé et exécuté en quelques minutes par le chef de chantier Tardy, à Montebello.

7. — La municipalité de la ville de Bône aurait employé



Fig. 3. — Oued avant les petites mesures antilarvaires.



Fig. 4. — Le même oued après les petites mesures antilarvaires (régularisation du lit).

avec succès un mélange de pétrole (1 partie) et d'huile lourde (4 parties). Nous avons expérimenté au laboratoire ce mélange, par comparaison avec le pétrole ordinaire pur.

0 cmc. 2 de ce mélange, projeté et étalé par agitation à la surface d'un bocal (163 cmq.). 3 larves de *Culex* et 3 larves d'*Anopheles* vivant dans ce bocal sont encore vivantes après 24 heures.

Contrôle : La même quantité de pétrole ordinaire, projeté à la surface d'un bocal semblable contenant un pareil nombre de larves de mêmes espèces et de mêmes dimensions, tue toutes ces larves en une 1/2 heure au plus.

L'huile lourde tombe au fond de l'eau ou reste en gouttelettes à la surface. Les larves peuvent respirer entre ces gouttelettes.

8. — M. le médecin aide-major Bachon avait bien voulu nous signaler l'effet nocif pour les larves de graines du Ricin tombées dans l'eau des gîtes. Nous avons voulu expérimenter au laboratoire cet effet des graines de Ricin. Mais des graines de *Ricinus communis*, d'autres de *Ricinus sanguineus* intactes, ou décortiquées, ou même écrasées, bien qu'alors elles donnassent un peu de liquide huileux, ne se montrèrent jamais dangereuses pour des larves d'Anophélines et de Culicines, laissées en observation plusieurs jours dans les bocaux.

3° *bis. Mesures contre les adultes.*

Nous avons employé cette année, à Montebello, pour la destruction des adultes dont les abris diurnes préférés sont les coins sombres des écuries, la projection de pétrole avec une pompe de jardin, suivie immédiatement de la projection d'une quantité double d'eau.

Durant l'hiver 1905-06, du soufre a été brûlé dans les caves des gares et maisonnettes du réseau de l'Etat, pour détruire les femelles hivernantes.

4° *Défense mécanique.*

L'avantage du confort réalisé par les mesures de défense mécanique assure le succès de ce mode de prophylaxie dans l'opinion publique. Bien des chefs de gare se félicitent d'être à l'abri des Moustiques et des Mouches. Nous citerons l'exemple

des gares de Kabylie, par où se fait un grand commerce de figues. Celles-ci attirent dans les gares où elles sont entreposées des nuées de Mouches qui noircissent les murs. Un nombre toujours croissant de particuliers adopte les grillages aux fenêtres et aux portes.

M. le chef de district Gautard, chargé spécialement de la défense antipaludique sur le réseau de l'État, a imaginé, pour le grillage des cheminées, de munir leur extrémité supérieure d'un chapeau semi-sphérique ou rectangulaire de toile métallique : l'augmentation de la surface compense la diminution causée par l'épaisseur du fil de fer, et le tirage s'effectue normalement. M. Gautard a expérimenté aussi des cadres grillagés horizontaux se fixant à l'ouverture inférieure des hottes des cheminées de cuisine, si difficiles à défendre.

La moustiquaire personnelle portative nous donne toujours, pour notre usage personnel, les mêmes satisfactions, à tous les points de vue.

***

Ces différents procédés prophylactiques sont combinables dans des proportions variables, suivant : leur possibilité matérielle, l'importance du groupement à défendre, l'importance du réservoir de virus, la virulence du paludisme (dose de quinine variable suivant les lieux), l'importance relative du réservoir de virus et des gîtes à Anophélines.

Nous nous plaçons d'abord au point de vue de la défense des Européens, et des intérêts du peuplement français, mais un certain nombre d'expériences sont consacrées uniquement à la prophylaxie antipaludique des indigènes. Si nous proposons, comme mesure de défense des groupements européens, l'éloignement du réservoir de virus indigène, c'est que nous considérons que cette mesure n'est ni impolitique ni inhumaine. Elle tient simplement compte des réactions différentes opposées par les indigènes ou les Européens à l'infection par le *Plasmodium*, et loin de se désintéresser de la cure des naturels, première condition de l'assainissement définitif, elle conseille de mettre à l'abri de la contagion indirecte les sujets sensibles, jusqu'au moment où la quininisation et la prospérité matérielle auront réduit le réservoir de virus indigène.

Modes d'évaluation des résultats de la prophylaxie.

L'appréciation du nombre des Anophélines, larves ou adultes, donne toujours des résultats très nets : à Tekteka (Mitidja), à Mondovi, il nous a été facile de voir et de montrer que les mesures antilarvaires avaient été insuffisantes. L'absence de larves et d'adultes à Montebello était d'autant plus frappante que larves et adultes pullulaient, à quelques kilomètres, dans les localités témoins.

Le pourcentage des grosses rates, relevé plusieurs fois au cours de l'été en un même lieu, nous a montré une coïncidence frappante entre la régression ou l'augmentation de ces grosses rates et les quininisations bien faites (Attatba, Tourville-Arzew, Aïn-Tedeles) ou les mal faites (Biskra).

(*A suivre.*)

Manifestations oculaires au cours des Trypanosomiases

Par V. MORAX

Les complications oculaires, au cours des infections naturelles ou expérimentales à trypanosomes sont si fréquentes qu'il n'est pas un observateur qui ne les ait signalées. Bruce notait déjà la fréquence de la cécité chez les animaux atteints du nagana. Les lésions palpébrales ou cornéennes sont signalées plus tard chez les animaux atteints de surra, de mal de Caderas, de dourine. On a même relaté, dans quelques rares cas de trypanosomiase humaine, des lésions intraoculaires sur la nature desquelles il convient cependant de faire les plus grandes réserves.

La nature et la pathogénie des lésions oculaires dans les trypanosomiases animales n'ont, le plus souvent, pas fixé l'attention. On s'est contenté de signaler les altérations de la cornée, sans indiquer leur caractère anatomique.

Parfois cependant, on a cru pouvoir rattacher le trouble de la cornée à des lésions superficielles compliquant l'inflammation de la conjonctive et du bord des paupières.

Quelques expérimentateurs néanmoins, MM. Elmassian et Migone entre autres, ont reconnu très nettement le siège des altérations cornéennes et l'existence de lésions inflammatoires au niveau de l'iris. Ils rattachent les opacités cornéennes survenant chez les animaux atteints du mal de Caderas à une kératite interstitielle, ce qui revient à dire qu'ils en font une inflammation des lames de la cornée indépendante de toute lésion épithéliale superficielle.

Il est possible, en effet, de répartir les infections de la cornée en deux groupes pathogéniques principaux : un premier groupe comprend les infections exogènes dans lesquelles le parasite pénètre le tissu propre de la cornée après effraction de la barrière épithéliale. Le second groupe est constitué par des infections endogènes dont les parasites gagnent les espaces interlamellaires de la cornée par l'intermédiaire de la circulation générale et en passant des vaisseaux dans les espaces lymphatiques. C'est à ce second groupe que l'on réserve la dési-

gnation de kératite interstitielle. La cornée atteinte de kératite interstitielle perd sa transparence, tout en conservant le plus souvent tout au moins, le reflet brillant de sa surface. Elle prend, en s'opacifiant, une teinte grisâtre ou blanchâtre qui lui donne l'apparence de verre dépoli ou de porcelaine. L'opacification peut être étendue à toute la cornée ou plus accusée en certains points. Il est fréquent de voir de fins vaisseaux pénétrer dans les régions opacifiées de la cornée. Après une durée variable, ces différents symptômes s'atténuent et peuvent même disparaître sans laisser de traces. En d'autres termes, la cornée peut reprendre une transparence normale. Les kératites interstitielles s'accompagnent fréquemment de lésions inflammatoires de l'iris et de la région ciliaire. Chez l'homme, trois formes d'infection peuvent réaliser ces lésions de kératite interstitielle : la lèpre, la tuberculose et la syphilis. C'est même à cette dernière infection qu'est dû le plus grand nombre des cas de kératite interstitielle. Nous devons faire remarquer qu'on en discute encore la relation directe ou indirecte avec l'infection syphilitique, et que, malgré les analogies qui existent entre la kératite interstitielle de Hutchinson et les kératites lépreuse et tuberculeuse, le plus grand nombre des médecins se refusent encore à voir en elle des lésions inflammatoires liées à la présence du parasite de la syphilis.

Jusqu'à présent, ces lésions de kératite interstitielle par infection endogène, n'avaient pas été observées chez les animaux et n'avaient pu être réalisées expérimentalement. Il nous a paru intéressant de rechercher, par l'étude histologique, la pathogénie des lésions de kératite interstitielle si fréquentes chez les animaux atteints de dourine ou de nagana expérimental. M. Mesnil a mis à ma disposition un certain nombre de chiens dourinés présentant ces lésions à différents stades de développement [1]. Nous avons pu suivre également l'évolution des lésions oculaires chez des chèvres de M. Mesnil, infectées de dourine ou de nagana.

M. Laveran a eu l'obligeance de nous confier les globes oculaires d'un chien inoculé de mbori par M. Cazalbou ; il nous a permis aussi de suivre l'évolution des lésions chez une chèvre inoculée de Souma.

1. Voir Mesnil et Rouget. *Annales Inst. Pasteur*, t. XX, sept. 1906.

SYMPTOMES OCULAIRES

L'évolution clinique des lésions oculaires au cours de la dourine ou du nagana expérimental n'offre pas des caractères absolument constants. Tous les animaux que nous avons observés avaient été inoculés par injection de sang dans la cavité péritonéale. Il s'écoula 1 ou 2 mois entre l'inoculation et l'apparition des symptômes oculaires.

Dourine : Ce fut le plus souvent le développement d'une opalescence diffuse de la cornée qui fixa l'attention. Dans un cas néanmoins, les lésions cornéennes furent précédées de la production d'un trouble grisâtre siégeant à la face postérieure du cristallin et indiquant l'atteinte initiale de la région ciliaire. L'opalescence cornéenne s'étend très rapidement à toute la membrane et se transforme en peu de jours en une opacité complète. La cornée prend alors un aspect porcelané qui empêche de suivre l'évolution des lésions intraoculaires. Cette kératite interstitielle s'accompagne d'une légère vascularisation conjonctivale, d'un certain degré de sensibilité à la lumière et de larmoiement. Dans aucun des cas observés par nous, chez le chien ou la chèvre, cette kératite n'avait été précédée ou accompagnée de symptômes de blépharite ou de conjonctivite. La surface épithéliale de la cornée restait intacte, tout au moins au début. En examinant à la loupe les lésions cornéennes, on constatait toujours, alors même que les lésions ne dataient que d'un petit nombre de jours, l'existence de fins vaisseaux siégant dans les différentes couches du parenchyme cornéen. Chez certains animaux, le développement des néo-vaisseaux dans quelques parties de la ornée était tel qu'il communiquait au tissu une coloration d'un rouge sombre.

Chez les chiens, ces lésions de kératite interstitielle persistèrent jusqu'à la mort de l'animal qui survint de 1 à 2 mois après l'apparition des troubles oculaires. Chez l'un d'eux, nous vîmes une des cornées s'ulcérer à son centre et se perforer. Chez un autre chien, les globes oculaires avaient subi une diminution de volume résultant d'un processus d'atrophie du globe, lié aux lésions de la région ciliaire.

Chez la chèvre, les lésions cornéennes ont évolué d'une manière particulièrement intéressante. C'est la chèvre I dont

l'observation a été relatée dans le travail de MM. Mesnil et Rouget (l. c., page 689). la kératite interstitielle bilatérale n'apparut que 18 mois environ après l'inoculation. C'est vers le milieu de juin 1906 que la cornée s'épaissit, s'opacifie et se vascularise : la surface non ulcérée est irrégulière. La chèvre est à ce moment complètement aveugle. Les lésions persistent au même degré jusqu'au milieu de juillet, époque à laquelle notre observation est interrompue. A partir de ce moment, le trouble de la cornée s'atténue progressivement et lorsque, au commencement de septembre, nous revîmes la chèvre, les cornées présentaient une transparence presque parfaite. Il ne persistait que de légères opalescences en certains points : l'animal avait recouvré la vision. Cette observation de guérison complète d'une kératite interstitielle au cours de l'infection à trypanosomes n'est pas spéciale à la dourine. Bruce relate l'observation d'une chèvre qui fut inoculée de nagana le 1er et le 25 septembre 1896. Le 9 décembre de la même année, la cornée gauche est laiteuse ; le 12 décembre, les 2 cornées sont opaques ; le 18 décembre, les opacités de la cornée droite ont complètement disparu et la cornée gauche est beaucoup moins opaque. Elmassian et Migone signalent aussi la guérison de ces lésions de kératite interstitielle chez les chevaux atteints du mal de Caderas. « Toujours fugaces, toujours bénignes, ces altérations disparaissent sans laisser de trace de leur apparition... On reste étonné de voir ce cortège important de troubles oculaires apparaître et disparaître en si peu de temps (quelques jours) et présenter une bénignité si remarquable. »

Nagana. Nous avons observé une chèvre inoculée de nagana le 16 juillet 1906 et qui présenta dans les premiers jours d'octobre 1906, une kératite interstitielle de l'œil droit. Le trouble de la cornée occupait presque toute l'étendue de la membrane et lui communiquait une teinte laiteuse. Vers le 20 octobre, le trouble commença à s'atténuer et le 31 octobre il ne persistait qu'une très légère opalescence qui disparut complètement dans la suite.

LÉSIONS HISTOLOGIQUES

L'étude histologique des lésions oculaires a été faite sur les globes oculaires de chiens dourinés. M. Laveran a bien voulu

nous confier les globes oculaires d'un chien inoculé par M. Cazalbou avec le trypanosome du dromadaire (mbori). Les globes oculaires ont été prélevés aussitôt après la mort spontanée, pendant la vie, ou après la mort provoquée. La fixation était faite dans le formol, dans le formol picrique, ou dans le liquide de Flemming. Après durcissement dans l'alcool, les globes furent inclus dans la celloïdine.

Nous nous sommes arrêté à la technique suivante pour la coloration des tissus et des parasites dans les coupes. Celles-ci sont immergées pendant une demi-heure dans une solution aqueuse d'éosine orange. Après lavage à l'eau, on les colore avec une solution aqueuse de bleu de toluidine. Les coupes séjournent 1/4 d'heure dans ce bain, puis on différencie rapidement avec de l'alcool à 90° auquel on a ajouté quelques gouttes du mélange glycérine éther de Unna. La deshydratation est faite avec l'alcool absolu et la demi-dessication. On passe au xylol et l'on monte dans le baume. Sur les préparations traitées de cette manière, les trypanosomes se détachent avec la plus grande netteté sur les tissus qui les entourent. On n'obtient néanmoins jamais d'images aussi parfaites que celles qui sont fournies par la coloration des parasites dans le sang. Les résultats sont cependant des plus suffisants pour juger la répartition des parasites dans les tissus. Les préparations ne conservent pas très longtemps la coloration ; après quelques semaines, les parasites ont perdu une grande partie de leur couleur.

L'examen histologique a toujours porté sur la totalité du globe oculaire. Nous envisagerons successivement les lésions de la cornée, de l'iris et de la région ciliaire, puis des membranes profondes. Nous ferons remarquer de suite que dans tous les cas examinés, il existait des lésions simultanées de ces différents tissus avec une prédominance marquée et constante des lésions du segment antérieur, de la cornée et de l'iris en particulier. Un autre fait assez constant est l'âge variable des lésions dans les différentes régions enflammées du globe. D'une manière générale, la caractéristique des altérations constatées réside dans une infiltration très marquée par des leucocytes

mononucléaires et dans la production d'exsudats de même nature à la surface de l'iris ou de la région ciliaire.

Cette infiltration a pour effet d'augmenter fortement l'épaisseur des tissus.

La cornée présente toujours une modification très marquée de sa structure, mais les altérations ne sont pas uniformément distribuées. En schématisant un peu, il est possible de retrouver trois types de lésions dans la cornée : d'une part, les lésions d'œdème au niveau desquelles les faisceaux conjonctifs qui constituent les lames de la cornée sont dissociés par un exsudat séreux ; l'infiltration cellulaire y est en général nulle ou peu marquée. Disons de suite que c'est au niveau de ce type de lésions que l'on rencontre le plus grand nombre de trypanosomes. Les parasites se colorent d'une manière très parfaite. Le second type de lésions qu'on observe au voisinage immédiat du premier est caractérisé par une infiltration très marquée de leucocytes mononucléaires. Le parenchyme cornéen est profondément dissocié. On ne retrouve qu'exceptionnellement et en petit nombre des trypanosomes nettement colorés. On constate par contre la présence en très grande quantité des formes dégénératives du parasite : ce sont surtout de petites sphères qui ont pris fortement la couleur et sont entourées d'une petite zone de protoplasma incolore ou faiblement colorée. Ces corpuscules siègent dans les interstices cellulaires, mais on en retrouve aussi d'assez nombreux inclus dans le protoplasma des leucocytes mononucléaires.

Il nous reste à décrire le troisième type de lésions qui diffère du précédent par l'absence presque complète de toute forme parasitaire et par la présence de nombreux vaisseaux dont la plupart sont dirigés parallèlement aux lames de la cornée. Nous n'avons pu retrouver de parasites dans la lumière des vaisseaux sectionnés.

Il s'agit, nous le répétons, d'une description un peu schématique. Ces trois types de lésions qui nous paraissent correspondre à 3 stades de l'évolution du processus inflammatoire n'étaient pas toujours aussi nettement tranchés dans tous les faits que nous avons observés.

Il est intéressant de voir la prolifération extrême des trypanosomes dans les mailles d'un tissu privé complètement de

vaisseaux comme l'est la cornée. La néoformation vasculaire était toujours postérieure aux lésions d'œdème et d'infiltration produite par l'invasion parasitaire. On ne saurait rattacher les lésions cornéennes, ainsi qu'on a voulu le faire pour certains types de kératites interstitielles chez l'homme, à une lésion primitive de la membrane de Descemet. Celle-ci a toujours présenté une continuité parfaite : son endothélium offrait parfois des modifications résultant des lésions iriennes. Il était fréquemment recouvert d'un exsudat formé par des leucocytes mononucléaires avec ou sans parasite, mais ces différentes lésions n'étaient nullement constantes. Nous passerons très rapidement sur les lésions de l'iris, de la région ciliaire et de la choroïde, car il s'agit là de tissus très fortement vascularisés, dont les lésions ne diffèrent pas essentiellement de celles que l'on a décrites dans les ganglions, la rate, la moelle osseuse. Nous avons vu, dans plusieurs cas, la chambre antérieure occupée par un exsudat fibrineux. La surface de l'iris était alors recouverte par une couche de trypanosomes au-dessous de laquelle le tissu irien se montrait infiltré de cellules mononucléaires. Dans d'autres cas, la prolifération du parasite s'était faite dans le tissu même de l'iris, dans l'épaisseur des procès ciliaires ou dans les espaces compris entre les procès ciliaires et le cristallin. Dans presque tous les cas, on retrouvait une infiltration cellulaire d'intensité variable dans les couches antérieures du corps vitré. A partir de l'équateur jusqu'au nerf optique, les lésions de la *choroïde* ou de la *rétine* sont, d'une manière générale, très modérées. Nous avons trouvé la rétine décollée dans quelques faits. Le plus souvent, les lésions se bornaient à l'existence de petits foyers d'infiltration siégeant dans la choroïde ou encore d'un léger exsudat cellulaire à la surface de la rétine. Dans ces différents foyers choroïdiens et rétiniens, on retrouve soit des parasites très parfaitement colorés, soit des corpuscules correspondant aux formes dégénératives, soit enfin l'absence de tout élément parasitaire.

CONCLUSIONS

Les manifestations oculaires au cours des trypanosomiases offrent un très grand intérêt en raison de leur fréquence et de leur caractère particulier. L'apparition d'une kératite intersti-

tielle non ulcérée, chez un animal, pourra, dans bien des cas, faire soupçonner une infection à trypanosomes.

Cette kératite interstitielle est provoquée par la prolifération des trypanosomes dans les espaces interlamellaires de la cornée. La prolifération du parasite entraîne une infiltration leucocytaire, puis un développement de vaisseaux. Ces lésions peuvent amener la désorganisation complète de la cornée. Elles sont susceptibles de disparaître en ne laissant, après elles, que des traces légères. Cette évolution s'observe en particulier chez les animaux qui présentent une résistance assez marquée à l'infection à trypanosomes. Ce fut le cas chez la chèvre atteinte de dourine ou de nagana. Chez les chiens, au contraire, la mort se produisit alors que l'animal présentait encore l'opacité complète des cornées.

Nous relaterons, à titre d'exemple, l'observation de quelques-uns de nos animaux.

Chien café au lait. — Inoculé le 12 avril 1906 avec 25 c. c. de sang de chèvre dourinée. Les trypanosomes sont vus pour la première fois le 29 avril 1906.

Le 9 mai 1906 on constate à droite un léger trouble cristallinien. Derrière le cristallin, on voit une masse blanchâtre semblable à un exsudat rétro-capsulaire.

A gauche, l'œil est normal. Des deux côtés les cornées sont saines.

Dans le cours du mois de juin, le trouble vitréen augmente à droite et il se produit des troubles de la cornée des deux côtés. Les deux cornées, sont absolument opaques, porcelanées.

Le chien meurt le 3 juillet 1906.

L'examen direct sur frottis du liquide obtenu par raclage de la cornée gauche est négatif.

Examen microscopique. — Les coupes antéro-postérieures de l'œil montrent l'existence très nettes d'altérations au niveau du segment antérieur du globe, consistant essentiellement en lésions du corps ciliaire, de l'iris et de la cornée. Ces altérations contrastent avec le faible degré de celles que l'on observe dans le segment postérieur, en particulier à partir de l'ora serrata. Nous décrirons successivement les lésions de la cornée, de l'iris, puis du corps ciliaire.

La cornée est très manifestement augmentée d'épaisseur, mais cet épaississement n'est pas régulier ni continu. La couche épithéliale subit quelques légères variations d'épaisseur. Elle forme une surface continue, mais n'est en aucun point le siège d'ulcérations. La membrane de Bowman est normale, même dans les points correspondant aux zones infiltrées. L'épaississement de la cornée est dû essentiellement aux modifications du tissu propre.

Elles consistent en lésions d'œdème et d'infiltration cellulaire. Les coupes montrent en outre, dans la zone périphérique de la cornée, un développement de vaisseaux à direction radiaire. Les zones d'infiltration cornéenne n'offrent aucune systématisation; c'est ainsi que du côté temporal elles intéressent autant les couches profondes que les couches superficielles du parenchyme cornéen. En d'autres points, elles occupent des régions moyennes de la cornée. Ailleurs, elles se limitent aux couches superficielles. On rencontre enfin des zones dont la structure paraît absolument normale : les lames cornéennes affectent une disposition parallèle et le nombre des cellules nucléées n'étant pas supérieur à ce que l'on a l'habitude de constater dans une cornée saine. Les caractères des cellules qui infiltrent la cornée varient suivant les points que l'on envisage. Dans la zone périphérique, où les modifications du parenchyme cornéen sont les plus accusées, on rencontre surtout des cellules de forme allongée ou ovoïde à noyau uniformément coloré et occupant presque toute l'étendue de la cellule. Le nombre des polynucléaires par rapport à ces mononucléaires est relativement très faible. Les cellules fixes de la cornée ont augmenté de volume.

La recherche des trypanosomes dans ces zones d'infiltration donne des résultats négatifs. L'examen d'une autre zone d'infiltration correspondant à une modification moins grave du parenchyme cornéen montre des aspects un peu différents.

Ici encore, les leucocytes mononucléaires constituent la majorité. Un assez grand nombre des cellules infiltrées offre un aspect très particulier: leur noyau a pris plus faiblement la couleur ; on en circonscrit pourtant nettement le contour; le protoplasma a acquis, par contre, un volume considérable et renferme des masses sphériques, de volume variable, et qui ont pris fortement la coloration bleue. Au niveau de ces zones d'infiltration moyenne, on reconnaît ici et là, en dehors du protoplasma cellulaire, de petites masses arrondies et ayant pris fortement la couleur. Le diamètre de ces sphères est assez constant. On constate parfois, autour de ce noyau, une petite zone protoplasmique mal différenciée. Le noyau présente un volume un peu supérieur à celui que l'on observe dans les trypanosomes typiques. Il nous semble certain qu'il s'agit là de parasites en voie de destruction. A la limite des zones d'infiltration moyenne, et en des points où les lésions du parenchyme cornéen restent au minimum, on constate par contre des amas plus ou moins considérables de parasites nettement définis. Les lames cornéennes paraissent légèrement dissociées, les cellules fixes montrent une légère hypertrophie de leur noyau et de leur corps protoplasmique, et l'on constate, entre ces éléments cellulaires, des trypanosomes diversement contournés et dont le corps cellulaire a pris une coloration violacée pâle, tandis que le noyau se détache en bleu sombre.

La membrane de Descemet présente une continuité parfaite. Son revêtement endothélial par contre ne paraît pas continu. On trouve, en certains points, des cellules tuméfiées présentant des vacuoles. On constate également un certain nombre de noyaux de trypanosomes semblables à ceux que nous avons signalés dans l'épaisseur de la cornée. Les couches profondes de la cornée voisines de la membrane de Descemet sont par points, surtout à la périphé-

rie, assez infiltrées : nous n'y avons pas décelé la présence de trypanosomes.

L'iris est fortement épaissi au point d'avoir quintuplé d'épaisseur, surtout au niveau de sa base. A un faible grossissement, on est déjà frappé par l'irrégularité de la pigmentation et par l'abondance des cellules mononucléaires qui infiltrent les mailles de l'iris. Ici encore, l'infiltration polynucléaire est insignifiante. On rencontre, en très grand nombre, les cellules renfermant des inclusions sphériques fortement colorées. Sur la coupe des vaisseaux et des capillaires, on trouve toujours de nombreux mononucléaires. En aucun point de l'iris, on ne réussit à mettre en évidence des parasites. A la face postérieure de l'iris, on trouve un exsudat d'aspect fibrineux qui renferme un nombre relativement faible d'éléments cellulaires chargés de pigment uvéal. Toute la région ciliaire, en particulier les procès ciliaires, la chorio-rétine jusqu'au niveau de l'ora serrata, sont le siège de la même infiltration lymphocytaire. Dans les espaces situés entre les franges des procès ciliaires, on trouve des amas de cadavres de trypanosomes. Ce sont des amas de petites sphères violettes séparées par une masse à contours mal définis et colorée en mauve très pâle. Ces amas sont entourés par un cercle de mononucléaires. A partir de l'ora serrata, les lésions tendent à s'atténuer. On constate bien encore, au niveau de la rétine, quelques mononucléaires et quelques cellules pigmentées jusque dans la couche des fibres nerveuses, mais à mesure que l'on se rapproche du pôle postérieur, cette infiltration elle-même s'atténue. On ne peut pas cependant trouver un point où rétine ou choroïde aient leur structure absolument normale. Le corps vitré est le siège d'une infiltration leucocytaire légère qui devient un peu plus marquée au voisinage de la rétine. Un fait des plus frappants consiste dans la rareté extrême des trypanosomes sur les coupes des nombreux vaisseaux intra ou extra oculaires.

En différents points de l'espace situé entre la choroïde et la rétine, on trouve des cadavres de trypanosomes ; en aucun point nous n'en rencontrons qui présentent l'intégrité de ceux que nous avons observés dans la cornée. Nous ajouterons à cela que la sclérotique ne présente pas de lésions, à l'exception d'une infiltration marquée au voisinage de la région du canal de Schlem et par conséquent de sa continuation avec la cornée.

Le nerf optique est normal. Il en est de même des muscles et de la graisse périoculaire.

L'œil gauche présente des altérations à peu près identiques.

En résumé, les globes oculaires de notre animal semblent présenter des lésions à différents stades d'évolution. L'absence de parasites nettement colorés ou la présence de formes dégénératives dans les parties postérieures du globe, au niveau de l'iris et dans une partie du parenchyme cornéen, nous paraissent indiquer que, dans ces différents points, le rôle actif du parasite est achevé et qu'il ne s'agit plus que de lésions de réparation. Nous voyons au contraire le parasite précéder l'infiltration cellulaire dans les parties de la cornée où le processus est encore en état d'activité.

Petit chien douriné.

Inoculé dans le péritoine le 27 janvier 1906, avec 10 c. c. de sang de chèvre dourinée.

Les trypanosomes sont vus pour la première fois le 20 mars.

Le trouble de la cornée s'est développé depuis 8 jours. Il est symétrique; les deux cornées sont très opalescentes dans toute leur étendue, avec une zone périphérique rouge due à la vascularisation interstitielle. Il n'y a pas de lésions superficielles, pas d'érosions épithéliales.

L'œil gauche est énucléé le 27 mars 1906. Pendant le mois d'avril les lésions cornéennes augmentent un peu à droite. Le trouble de la cornée devient plus marqué, mais permet néanmoins encore de reconnaître la présence d'un exsudat dans la chambre antérieure.

L'examen du sang, au moment de la mort provoquée le 20 avril 1906, ne montre qu'un nombre relativement faible de trypanosomes (2 à 3 par champ microscopique).

Œil droit. — L'examen, à un faible grossissement, montre que les lésions portent surtout sur l'iris et la région ciliaire. La chambre antérieure est occupée par un exsudat fibrineux : les lésions cornéennes sont modérées. L'épaisissement de la cornée est peu manifeste.

Au niveau de la cornée, on ne constate aucune solution de continuité de l'épithélium cornéen; il n'est que faiblement infiltré de cellules migratrices et à la périphérie seulement. Dans toute l'étendue de la cornée, on observe une infiltration de mononucléaires qui présente une densité variable suivant les points et les couches examinés. A la périphérie cornéenne, cette infiltration est plus marquée au niveau des couches antérieures, ou postérieures de la cornée. Dans la zone centrale, ce sont tantôt les couches antérieures, tantôt les couches moyennes qui présentent cette infiltration. Dans presque toute l'étendue de la cornée, on trouve des coupes transversales ou longitudinales de vaisseaux. La recherche des trypanosomes dans la cornée est négative. On ne constate même nulle part les corpuscules arrondis et fortement colorés qui caractérisent les lésions en voie d'extinction. Presque partout, les cellules infiltrées se sont allongées, leur protoplasma est peu abondant. La membrane de Descemet est intacte, la couche endothéliale est continue avec des épaississements très marqués, surtout au niveau de l'angle irido-cornéen. On trouve là une accumulation de lymphocytes avec de rares polynucléaires. L'iris est fortement épaissi et infiltré de cellules mononucléaires à protoplasma abondant. La chambre antérieure est remplie par un exsudat fibrineux, dans les mailles duquel on trouve, en très grand nombre, des leucocytes mononucléaires. On ne voit, pas plus dans la chambre antérieure que dans l'iris, de parasites ou de formes pouvant être rattachées aux parasites dégénérés. Il en est de même au niveau de la région ciliaire. A partir de l'ora serrata, les lésions d'infiltration deviennent très peu importantes: il faut cependant signaler de petits foyers d'infiltration leucocytaire en différents points de la choroïde et au voisinage de quelques-uns des capillaires de la rétine; on constate aussi, çà et là, des petits foyers d'infiltration, mais ces lésions sont de peu d'importance à côté de celles du segment antérieur. Dans le corps vitré, l'infiltration cellulaire, d'ailleurs discrète, augmente à mesure qu'on se rapproche de la face postérieure du cristallin ou des procès ciliaires. A ce niveau même, il existe, comme dans la chambre antérieure, un réseau de fibrine exsudée.

Œil gauche. — Énucléé 1 mois avant l'œil droit, il n'a été étudié que dans

son segment antérieur. La cornée présente des lésions assez semblables à celles de l'œil droit; même intégrité de l'épithélium cornéen, même infiltration discrète, même vascularisation interstitielle. On ne trouve dans aucune partie de la cornée des trypanosomes manifestes. L'endothélium et la membrane de Descemet sont continus; la chambre antérieure est occupée par un exsudat cellulaire et fibrineux, mais où l'élément cellulaire prédomine. Le tissu irien est fortement épaissi et infiltré de mononucléaires. Dans les interstices de cette infiltration cellulaire, on trouve en différents points un nombre prodigieux de trypanosomes nettement définis et colorés. La même infiltration et la même abondance de parasites s'observent encore au niveau de la région ciliaire.

L'intervalle d'un mois qui a séparé l'examen des deux globes, atteints d'une manière assez semblable a suffi pour que le parasite disparût entièrement des tissus oculaires et bien avant la réparation des lésions.

Chien douriné F.

Inoculé dans le péritoine le 27 janvier 1906, avec 20 c. c. de sang de chèvre dourinée.

Les trypanosomes sont vus pour la première fois le 24 mars. Les cornées se troublent vers cette époque et le chien meurt aveugle le 12 avril.

Les lésions histologiques de la cornée consistent essentiellement dans un épaississement considérable de cette membrane, beaucoup plus accusé dans la région centrale qu'à la périphérie; elle atteint jusqu'à 2 millimètres d'épaisseur. L'épaississement est dû presque uniquement à l'infiltration cellulaire et à l'infiltration œdémateuse interstitielle. Les trypanosomes se retrouvent en nombre considérable et très nettement colorés dans les différentes couches de la rétine. L'épithélium ne présente pas de solution de continuité, pas plus que la membrane de Bowman. La membrane de Descemet est normale et ne montre aucune interruption. L'endothélium est tapissé par un nombre variable de cellules dont un assez grand nombre renferme du pigment choroïdien.

L'humeur aqueuse renferme beaucoup de corpuscules chromatiques. Au niveau de l'angle irido-cornéen, l'infiltration cellulaire est très accusée et le nombre des corpuscules chromatiques est très grand. L'iris est fortement épaissi par suite de l'infiltration cellulaire. La face antérieure est absolument recouverte par une masse formée de trypanosomes dégénérés. On observe les mêmes lésions au niveau de la région ciliaire. A partir de l'ora serrata, les lésions disparaissent et l'on ne remarque aucune altération du côté de la choroïde ou de la cornée. Notons cependant encore que le tissu périscléral, ainsi que les couches profondes des muscles droits, est le siège d'une infiltration cellulaire très marquée, qui diminue un peu au voisinage du nerf optique. Le nerf optique et ses gaines ne présentent pas d'altérations.

Chien Cazalbou n° 1.

Inoculé le 10 mars 1906 avec le trypanosome du dromadaire (mbori) au Soudan, par M. Cazalbou.

Le 5 mai, à son arrivée à Paris, le chien montre de la kératite de l'œil gauche ; la cornée est trouble. Le 25 mai, date de la mort, la cornée droite a conservé sa transparence ; l'œil gauche est augmenté de volume ; la cornée est jaunâtre, opaque, avec une vascularisation interstitielle très marquée.

L'examen microscopique de l'œil droit ne montre aucune lésion histologique. Les différentes parties des membranes de l'œil ne sont le siège d'aucune infiltration cellulaire.

L'épaisseur de la cornée de l'œil gauche est manifestement augmentée et irrégulière. Cet épaississement est dû, pour une part, à une infiltration cellulaire qui s'observe surtout sous forme de traînée parallèle à la surface, mais il résulte aussi d'un développement très accusé des vaisseaux intracornéens. Sur les coupes, on rencontre des lacunes vasculaires dont le diamètre atteint jusqu'au 1/6e de l'épaisseur de la cornée. Le développement des vaisseaux est tout particulièrement accusé dans les couches correspondant aux 2/3 antérieurs de la cornée. Ils sont en continuité avec des vaisseaux ciliaires antérieurs ainsi qu'avec le réseau sous-conjonctival. Le 1/3 postérieur des lames cornéennes est presque entièrement dépourvu de vascularisation. L'épithélium cornéen et la membrane de Bowman sont intacts dans toute leur surface.

La membrane de Descemet est interrompue dans une certaine étendue de son trajet. Au voisinage de l'angle irido-cornéen, l'endothélium de Descemet est tapissé par plusieurs couches de mononucléaires.

Dans les zones d'infiltration de la cornée, on trouve en assez grand nombre des corpuscules arrondis fortement colorés et correspondant aux parasites en voie de désintégration. En certains points aussi, on trouve des trypanosomes nettement colorés. L'endothélium de Descemet présente des vacuoles et son noyau est mal coloré. L'humeur aqueuse renferme en assez grand nombre de parasites qui, pour la plupart, ne sont plus reconnaissables qu'à leurs corpuscules chromatiques. Un réseau de fibrine, enserrant un assez grand nombre de lymphocytes mono et polynucléaires, occupe la pupille et la face antérieure de l'iris. L'iris est fortement épaissi et infiltré de cellules, au milieu desquelles on reconnaît des parasites nettement colorés ou réduits aux corpuscules chromatiques. L'infiltration de l'iris est plus marquée dans les couches antérieures et dans les parties moyennes qu'au voisinage immédiat de la pupille. Les procès ciliaires sont le siège de lésions semblables. L'infiltration de la région ciliaire est surtout limitée aux couches superficielles. A partir de l'ora serrata, l'uvée ne montre nulle part de lésions.

La rétine est soulevée, mais il s'agit vraisemblablement de lésions cadavériques. Le corps vitré est le siège d'une infiltration cellulaire discrète qui augmente au voisinage de la face postérieure du cristallin et de la région ciliaire. On y observe également un certain nombre de parasites dégénérés.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE DES TRAVAUX CONSULTÉS

A. Bettencourt, Ayres Kopke, Gomez de Rezende, Correa Mendes. — *La Maladie du sommeil :* Rapport présenté au ministère de la Marine et des Colonies par la mission portugaise. Lisbonne, 1903.

David Bruce. — *Preliminary Report on the tse-tse Fly disease on nagana in Zululand. Ubombo-Zululand.* Déc. 1895.

D. Bruce. — *Appendice au 4e rapport sur la maladie de la mouche Tsé-tsé ou nagana dans le Zululand.* Londres, 1903.

A. Broden. — Les infections à trypanosomes au Congo chez l'homme et les animaux. *Bulletin de la Société d'études coloniales.* Février 1904.

— Trypanosomiases et maladies du sommeil. *Ibid.* 1904.

— Un nouveau cas de trypanosomiase chez l'Européen. *Ibid.* 1905.

— La trypanosomiase chez l'Européen. *Ibid,* 1905.

Bradford et Plimmer. — Le trypanosome Brucei, l'organisme trouvé dans le nagana ou maladie de la mouche tsé-tsé. *Quart. Journal of mic. science* 1901. Vol. XLV. p. 449.

Elmassian et Migone. — Sur le mal de Caderas. *Annales de l'Institut Pasteur,* 1903, p. 241.

Gunther et Weber. — Un cas de trypanosomiase chez l'homme. *Münch. med. Woch.* 1904, n° 24.

Kanthack, Durham et Blandford. — Sur le nagana ou maladie de la mouche tsé-tsé. *Proceed. of the Royal Soc.* 1899, vol. XLIV. p. 100.

Laveran et Mesnil. — *Trypanosomes et trypanosomiases.* Paris, 1904.

— Recherches sur le trypanosome des rats. *Annales de l'Institut Pasteur,* 1901, p. 673.

— Rech. morphol. et expér. sur le tryp. du nagana. *Ibid.* 1902, p. 1.

Mesnil et Rouget. — Sensibilité des ruminants et des singes au trypanosome de la dourine. *Annales de l'Institut Pasteur,* 1906, p. 659.

Patrick Manson. — Trypanosomiase du Congo. *Britich med. Journ.* 28 mars, 1903, p. 720.

Patrick Manson et Daniel. — Remarques sur un cas de trypanosomiase. *Ibid.* 30 mai, 1903, p. 1249.

M. Roemer. — Infection intraoculaire par les protozoaires. *Société allemande d'opht. d'Heidelberg,* 1906.

— Recherches sur l'ophtalmie sympathique. *Arch. f. Augenheilk,* 1906.

A. Rodet et Vallet. — Contribution à l'étude des trypanosomiases. *Archives de méd. expérimentale.* 1906, p. 450.

E. Sauerbeck. — Contribution à l'histologie pathologique de l'infection expérimentale par les trypanosomes. *Zeitschrift f. Hyg. u. Infectionskrankheiten.* 1905, vol. LII. p. 31.

— Les trypanosomiases au point de vue de la pathologie générale. *Ergebnisse der Allg. Path. und Path. Anatomie* de Lubarsch et Ostertag. Xe année, 1906.

Schilling. — *Centralbl. für Bakt.* I. Origin. 1901. T. XXX.

Stock. — Sur la kératite parenchymateuse chez le chien, produite par l'infection générale par le trypanosome. *Société allemande d'opht. d'Heidelberg.* 1906.

Stargardt. — Sur les protozoaires dans l'œil. *Ibid.* 1906.

Vassal. — Rapport sur le surra de Maurice au Gouv. de la Réunion. *Journal officiel de l'Ile de la Réunion,* 17 avril 1903, p. 215-220.

EXPLICATION DES PLANCHES

Pl. I. — Aspect des lésions cornéennes dans la kératite interstitielle d'un chien douriné. Fixation par le liquide de Flemming. Coloration par le magenta et le picro-indigo-carmin.

EP. Épithélium cornéen.

C. Tissu propre de la cornée.

MD. Membrane de Descemet.

O. Zone d'œdème.

NV. Néo-vaisseaux.

Grossissement 120/1.

Pl. II. fig. 1. — Aspect des trypanosomes au niveau des lésions œdémateuses de la cornée. Fixation par le formol à 10 0/0. Coloration par l'éosine orange et le bleu de toluidine.

Oculaire 3. Objectif immers. 1/15 Stiassnie.

Fig. 2. — Formes dégénératives des trypanosomes dans l'épaisseur de la cornée. Fixation par le formol à 10 0/0. Coloration par l'éosine orange et le bleu de toluidine.

Corpuscules intra et extracellulaires.

Oculaire 3. Obj. immers. 1/15 Stiassnie.

Fig. 3. Formes dégénératives des trypanosomes dans la chambre antérieure.

Fixation par le formol à 10 0/0. Coloration par l'éosine orange et le bleu de toluidine.

C. couches postérieures de la cornée.

MD. Membrane de Descemet.

ED. Endothélium de Descemet.

Oculaire 3. Obj. immers. 1/15 Stiassnie.

Recherches sur les microbes anaérobies des eaux

Contribution à l'étude bactériologique des eaux potables

DEUXIÈME MÉMOIRE

Par M. H. VINCENT

Médecin-major de 1re classe, Professeur à l'École d'application du Val-de-Grâce.

I

Parmi les opérations que nécessite l'analyse bactériologique des eaux, il en est une qui offre une réelle importance et qui n'est, cependant, presque jamais effectuée dans les laboratoires : je veux parler de la recherche quantitative et qualitative des microbes anaérobies qu'elles renferment. En négligeant cette pratique, on se prive d'un élément utile et même, parfois, indispensable d'appréciation des eaux de boisson.

C'est un fait sur lequel j'ai déjà sommairement appelé l'attention dans un travail antérieur [1]. A côté de la numération et de la détermination botanique des microbes existant dans les eaux, j'ai montré qu'il est nécessaire de dénombrer le satellite le plus constant du bacille typhique, le *B. coli communis*; et, d'autre part, j'ai fait remarquer que les eaux contaminées sont toujours plus ou moins riches en anaérobies.

Ce dernier sujet a fait également, de ma part, l'objet d'une note préliminaire à la *Société de Biologie*, note dans laquelle je signale l'importance de la recherche des anaérobies dans les eaux, les relations qu'ils affectent comparativement avec les aérobies et la signification que revêt l'élévation anormale des anaérobies *absolus* lorsqu'il s'agit d'apprécier la valeur des eaux potables [2].

Plus récemment, Guillemard [3] a insisté très justement sur le

1. H. Vincent, Sur la signification du *Bac. Coli* dans les eaux. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 avril 1905, p. 233.

2. H. Vincent, Importance de la recherche des microbes anaérobies dans l'analyse des eaux de boissons, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 27 mai 1905, p. 925.

3. A Guillemard, La culture des microbes anaérobies appliquée à l'analyse des eaux, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1906, p. 155.

rapport des aérobies avec les anaérobies et l'utilité de leur évaluation numérique réciproque. montre que dans l'eau de la Vanne, la proportion des anaérobies est à celle des aérobies comme 76 est à 1000, alors que dans l'eau de Seine à Ivry ce taux s'élève à 300 0/00; dans l'eau d'égoût, à 520 0/00.

Mais cet auteur n'a pas séparé, dans son étude, les anaérobies vrais des anaérobies facultatifs. Or, en comparant numériquement, au chiffre des aérobies, le total fourni par l'ensemble des anaérobies vrais et des anaérobies facultatifs, on commet une erreur résultant de ce que ces derniers se trouvent ainsi simultanément dénombrés dans les cultures à l'air et dans les ensemencements dans le vide [1].

Il m'a donc paru qu'il y avait, peut-être, quelque utilité à étudier plus complètement les anaérobies existant dans les eaux : les rapports qu'ils offrent, dans ce même milieu, avec les aérobies ; enfin et surtout, de tirer de ces recherches les conséquences pratiques qu'elles comportent au point de vue de l'analyse bactériologique des eaux potables.

***

Quelle que soit sa nature, superficielle ou profonde, stagnante ou courante, l'eau n'a point, par elle-même, de qualité microbienne qui lui soit propre. Son degré de pureté ou d'adultération participe de celui des couches qu'elle est appelée à traverser, et des causes adventices de contamination venant des poussières aériennes, des déjections, des eaux de lavage, des infiltrations, etc.

Les éléments les plus redoutables de l'infection hydrique sont : les déjections des individus malades ou même sains et, en second lieu, les matières organiques, végétales ou animales, en putréfaction. Il est, par conséquent, facile de comprendre que le colibacille n'est pas le seul microorganisme indicateur de ces modes d'infection. A côté de lui vivent normalement, dans le tube digestif de l'homme et des animaux, un grand nombre de microbes anaérobies : l'absence d'oxygène, l'abondance et le renouvellement incessant des matériaux nutritifs

1. Cette erreur peut être très notable, attendu qu'un grand nombre de microbes de l'eau sont des anaérobies facultatifs et que, plus une eau est impure, plus ces derniers microorganismes sont abondants. Si l'on consulte la liste des 42 bacilles énumérés par Miquel et Cambier, dans leur *Traité de Bactériologie* (p. 721.) comme fréquents dans les eaux, on voit que 16 d'entre eux, c'est-à-dire plus du tiers, sont, effectivement, des anaérobies facultatifs.

font, de l'intestin, l'habitat de prédilection de ces microbes.

Il suit de là qu'une eau qui a reçu, directement ou non, des matières fécales, du purin, des eaux d'égout ou de lavage, doit renfermer des espèces anaérobies, alors que la proportion de ces derniers sera, par contre, très restreinte, ou même à peu près nulle dans les eaux abritées contre ces causes d'adultération.

La contamination fécale de l'eau n'est pas la seule qui se traduise par la présence d'anaérobies. Les eaux de source, de rivière, de puits, d'étang peuvent encore recevoir des matières organiques en putréfaction : la présence de végétaux morts, de matières humiques, celle de cadavres d'animaux et d'insectes de toute espèce contribuent à augmenter gravement la teneur de ces eaux, non seulement en saprophytes aérobies vulgaires, mais encore en microbes anaérobies, la putréfaction étant surtout fonction de ces derniers.

Ces raisons suffisent à montrer que, dans les essais destinés à nous renseigner sur la valeur bactériologique d'une eau, il y a toujours lieu de compléter la numération et la détermination des espèces aérobies par celle des microbes anaérobies que ces eaux peuvent simultanément recéler.

Avant de poursuivre, il est nécessaire d'indiquer par quels procédés on peut les mettre en évidence.

II

TECHNIQUE DE LA RECHERCHE DES ANAÉROBIES DANS LES EAUX

L'ensemencement, dans le vide, d'une eau de boisson donne lieu à la végétation simultanée des anaérobies *absolus* et des anaérobies *facultatifs*. Doit-on, dans la pratique, s'attacher à la recherche des uns et des autres? J'ai déjà abordé ce sujet.

Il ne faut pas oublier que la détermination des anaérobies ne doit constituer qu'une partie de l'analyse de l'eau, et qu'elle ne dispense en rien de l'étude des aérobies par le procédé classique des cultures sur plaques. Il est évident, dès lors, que l'isolement et le dénombrement des anaérobies facultatifs n'offrent qu'un intérêt secondaire puisque leur recherche ferait, sans utilité, double emploi avec leur dénombrement dans les cultures sur plaques.

Ce sont donc les microbes anaérobies *stricts* que le bactériologue doit se préoccuper d'isoler et d'identifier dans les eaux à analyser. Mais il se présente, dès l'abord, une difficulté : aucun moyen n'existe, qui permette de distinguer à première vue, dans les cultures, les anaérobies facultatifs des anaérobies stricts. Les uns et les autres se multipliant simultanément dans les milieux nutritifs, il devient difficile de les différencier sans recourir à un ensemencement secondaire de chaque colonie en milieu aéré, ce qui complique l'expertise et exige beaucoup de temps et de patience. La technique que je vais indiquer remédie cependant à un tel inconvénient et permet, le plus souvent, la distinction facile des microbes anaérobies vrais ou facultatifs.

Le procédé de Veillon (culture en gélose glycosée), très pratique pour l'analyse des produits pathologiques qui ne renferment que des anaérobies thermophiles, donne de moins bons résultats pour l'étude des anaérobies saprophytes de l'eau. La gélose constitue, d'autre part, un milieu nutritif assez dense dans lequel toutes les colonies anaérobies présentent très souvent une *physionomie uniforme*. Si l'on veut aller à la recherche d'une colonie centrale et l'isoler, à l'état pur, avec la pipette effilée, on éprouve, parfois, de réelles difficultés. Enfin la plupart des anaérobies saprophytes de l'eau végètent mieux à 20°-25° qu'au delà de cette température.

Pour ces diverses raisons, le milieu nutritif à préférer est non la gélose, mais la gélatine. On lui additionne une certaine quantité de glycose et de glycérine. Ainsi que l'ont montré Roux et Nocard, la glycérine accroît la valeur nutritive du milieu ; de plus, elle en évite la dessiccation. La composition de ce milieu est donc la suivante :

Gélatine extra	50 à 75 grammes.
Glycose	5 grammes.
Glycérine	5 —
Bouillon de bœuf peptoné	500 centimètres cubes.

(Neutraliser, répartir en tubes et stériliser.)

Au moment de s'en servir, on ajoute la quantité suffisante de sulfo-indigotate de soude, en solution stérilisée.

Pour l'isolement des anaérobies du genre Tyrothrix (Duclaux), on peut ajouter, au milieu précédent, 15 à 20 0/0 de lait écrémé, filtré et stérilisé.

L'eau à ensemencer est mélangée, en proportion variable

suivant sa souillure probable, dans la gélatine pepto-glyco-glycérinée préalablement bouillie et ramenée à la température de 30° à 35°. Lorsqu'il s'agit d'une eau supecte ou notoirement impure, la dose à ensemencer doit être de 1/20, 1/50 à 1/100 de centimètre cube. Pour les eaux pures, on peut, sans inconvénient, ensemencer dans chaque tube 1/2, 1 ou 2 c. c. ou même plus.

Le mélange étant fait, on l'aspire dans des tubes-pipettes d'une longueur de 50 centimètres, et d'un diamètre intérieur assez étroit (3 à 4 millimètres). Il est utile d'avoir, à l'avance, un certain nombre de ces tubes tout préparés et stérilisés, pourvus d'un étranglement et d'un bouchon d'ouate au voisinage de l'extrémité buccale, et d'une effilure un peu large à l'autre extrémité.

Le tube rempli et scellé aux deux extrémités est ensuite porté sous un filet d'eau froide qui fait figer la gélatine.

Le dispositif qui précède permet aisément de faire la numération et l'isolement des colonies de microbes anaérobies. Les anaérobies stricts présentent, dans la gélatine pepto-glyco-glycérinée et additionnée d'indigo, des caractères objectifs qui permettent de les distinguer rapidement des anaérobies facultatifs.

Ces derniers forment presque toujours des colonies tassées, ramassées, opaques, blanches ou grises, à contours très bien limités, alors que, dans ce milieu peu compact, les anaérobies véritables présentent, au contraire, une sorte d'*air de famille* qui leur est commun, et qu'il est facile de discerner dans les tubes étroits où ils sont espacés et accessibles à la vue. Les colonies d'anaérobies stricts sont, en effet, celles qui sécrètent plus spécialement des gaz. Elles ont, presque toutes, des contours diffus; elles sont légères, nuageuses, floconneuses ou faiblement granuleuses, émettant parfois des prolongements ténus et délicats. Quelques anaérobies donnent des colonies à peine apparentes et se reconnaissent seulement à une faible opacité et à la décoloration de la gélatine. Tel est l'aspect le plus habituel de ces colonies.

La distinction et la numération des anaérobies véritables sont donc rendues faciles par cette technique. La section du tube, à l'aide d'un trait de lime, permet, du reste, d'étudier et

d'isoler chaque colonie, et, si la nature de l'une d'elles restait néanmoins douteuse, l'ensemencement sur gélose ou gélatine, en présence de l'air, fournirait la réponse.

La presque totalité des anaérobies des eaux sont d'espèce bacillaire. D'autre part, un grand nombre d'entre eux sont sporulés. C'est pourquoi, pour l'isolement rapide des anaérobies sporulés, j'utilise parfois le chauffage de l'eau à 75° pendant 10 minutes. Au bout de ce temps, l'eau est directement mélangée à la gélatine privée d'air et aspirée dans les tubes étroits comme il a été dit précédemment.

La recherche des microbes *pathogènes* anaérobies qui peuvent exister dans les eaux nécessite leur isolement préalable. A cet effet, et suivant le degré de pureté présumé de l'eau, on ensemence dans du bouillon privé d'air par l'ébullition, une à deux gouttes — ou bien, si l'eau est assez pure — un à plusieurs centimètres cubes et on fait, de ce mélange, une culture dans le vide ou dans l'hydrogène, à la température de 38°[1]. On examine après deux ou trois jours et, s'il y a utilité, on fait la séparation des microbes dans la culture en gélose glyco-glycérinée. Il est ensuite facile d'étudier chaque microbe et d'en éprouver le pouvoir pathogène par inoculation dans les muscles de la cuisse d'un ou de plusieurs cobayes.

III

NOMBRE ET NATURE DES ANAÉROBIES DES EAUX

Le *chiffre* des anaérobies absolus qu'on trouve dans les eaux est extrêmement variable, suivant la qualité de ces eaux. D'une manière générale, ce nombre est très inférieur à celui des anaérobies. Mais il n'en subsiste pas moins un parallélisme assez étroit entre la quantité des uns et des autres; plus est élevée la teneur d'une eau en microbes aérobies, plus cette eau est également riche en anaérobies[2].

Dans les eaux de boisson de bonne qualité, la flore anaérobie est très restreinte : il est, parfois, nécessaire d'ensemencer

1. La séparation des anaérobies pathogènes peut être réalisée directement par ce moyen qui n'est qu'une application de la méthode enseignée par Miquel pour la numération des aérobies. Mais il faut alors n'ensemencer dans le bouillon qu'une très petite quantité d'eau à la fois (une goutte ou même moins) et multiplier les ensemencements dans un grand nombre de tubes.

2. Cette règle comporte des exceptions d'un intérêt spécial, que j'étudie plus loin.

plusieurs centimètres cubes de ces eaux pour obtenir un résultat positif[1].

Dans les eaux de médiocre valeur, renfermant, par exemple, 1,000 à 2,000 bactéries *aérobies* par centimètre cube, le chiffre des anaérobies s'élève lui-même à 5, 10, 15, 20 par centimètre cube.

Dès que l'eau est sérieusement contaminée, on trouve 20, 50, 100 anaérobies vrais, et plus encore, par centimètre cube. Dans l'eau de Seine, on en compte de 5 à 20, environ, en été, et de 30 à 50, environ, en hiver ou bien après une période de pluie.

Les eaux putrides, les eaux d'égouts, l'eau de Seine prélevée immédiatement en aval de Paris, l'eau corrompue de certaines citernes, peuvent contenir 200, 500, et même, quoique plus exceptionnellement, jusqu'à 1,000 bactéries anaérobies par centimètre cube. Certaines eaux, très gravement souillées, en comptent plusieurs milliers.

Dans ces cas, il est nécessaire de diluer fortement l'eau à analyser, avant de l'ensemencer. Sinon, la formation des gaz est si intense que le tube peut se briser sous l'influence de leur pression.

Le *nombre des espèces* anaérobies trouvées dans les eaux est variable aussi, et d'autant plus grand que l'eau est plus infectée. Dans les eaux les plus souillées, on peut compter jusqu'à 4, 5, 6 espèces différentes.

La *nature* des anaérobies des eaux et leur détermination ne peuvent être toujours spécifiées, pour cette raison que leur classification n'en a pas encore été faite d'une manière complète. Toutefois, j'ai constaté qu'il n'y a pas, à proprement parler, de bactéries anaérobies spéciales aux eaux. Tous ou presque tous les microorganismes dont j'ai pu faire l'étude appartiennent aux espèces que l'on rencontre aussi dans le sol et les poussières, dans les résidus organiques en fermentation, enfin dans les matières fécales. Il ne me paraît pas, jusqu'ici, que l'on puisse conclure de la nature des anaérobies trouvés dans une eau à la cause spéciale qui les a apportés : matières fécales, terre, substances organiques ou végétales putréfiées.

Les microbes anaérobies véritables les plus communs dans

1. L'eau de la Dhuys, celle de la Vanne, celle de plusieurs sources que j'ai analysées, contiennent, en moyenne, de 200 à 1,000 colonies anaérobies *par litre*.

les eaux sont : le *Bac. solidus* de Lüderitz, dont les colonies, non liquéfiantes, ressemblent à de petites sphères de coton; le *Bac. spinosus* dont les colonies, composées de filaments délicats et radiés, liquéfient la gélatine en dégageant des gaz d'odeur butyrique; le *B. liquefaciens parvus* et le *B. liquefaciens magnus* (ces deux espèces sont fréquentes) ; le *B. butyricus*.

On rencontre assez souvent aussi, dans l'eau, le bacille pseudo-tétanique, à spore non exactement terminale, et qui a, du reste, été trouvé communément par M. Vaillard et moi-même dans le sol cultivé et les excréments des animaux.

J'ai isolé, à deux reprises, dans les eaux, un bacille que j'appellerai *Bacillus stellatus* (*nov. sp.*). C'est un petit bâtonnet de 1μ à 3μ, immobile, non coloré par la méthode de Gram. Il se développe assez lentement sur la gélatine et ne liquéfie pas cette dernière. Il forme, le long de la strie d'ensemencement, un élégant et fin pointillé blanchâtre, sans production de gaz. Ensemencé par dilution dans la gélatine ou l'agar glyco-glycériné, il donne des colonies ponctuées très petites, blanchâtres, parfois groupées autour d'une colonie centrale plus volumineuse et plus opaque.

Cultivé dans le bouillon, il le trouble uniformément. Ses cultures dégagent une odeur désagréable et assez pénétrante.

Il n'est pas pathogène pour les animaux[1].

J'ai également rencontré dans l'eau d'un puits et dans l'eau de Seine un autre bacille que j'appellerai *Bac. nebulosus* (*nov. sp.*) et qui offre les principaux caractères suivants.

C'est un bacille fin, allongé, souvent sinueux, ayant 6 à 8 μ de longueur, 0μ6 de largeur, et présentant souvent l'aspect filamenteux par juxtaposition, bout à bout, de plusieurs articles. Ses extrémités sont nettes, non arrondies. Il est immobile.

Il se colore par la méthode de Gram.

Dans la gélatine, ses colonies isolées donnent lieu à de petits amas nuageux, pâles, uniformes, bien visibles à partir du 3ᵉ ou 4ᵉ jour. Il ne secrète pas de gaz. En gélatine-piqûre, il donne lieu au même trouble homogène. Le milieu commence à se liquéfier le 4ᵉ jour; la liquéfaction est ensuite très rapide.

1. Ce microbe semblerait se rapprocher un peu du *Bac. polypiformis* de Liborius et du *Bac. anaerobius II* de San Felice. Mais il est immobile et ses colonies sont blanches, non arborescentes.

et complète au 10e jour. A ce moment, on constate un dépôt gris blanchâtre au fond du tube.

Sa culture est peu abondante dans le bouillon. Dans la gélose, ses colonies apparaissent plus lentement que dans la gélatine. Elles sécrètent parfois de petites bulles de gaz, d'odeur à la fois caséeuse et acide.

Ce bacille est sporulé Ses spores sont légèrement ovales.

Il n'est pas pathogène pour les animaux [1].

Du reste, j'ai rencontré, dans les eaux, la plupart des microbes anaérobies dont j'ai fait incidemment la mention dans les lignes qui précèdent. Le *Bac. radiatus* est fréquent dans les eaux de mauvaise qualité; il en est de même du *Bac. anaerobius* IX, de San Felice, ainsi que du *Bac. enteritidis sporogenes* de Klein. Par contre, les microorganismes du genre *Tyrothrix*, le *Bac. tenuis*, le *Bac. claviformis* (Duclaux), le *Clostridium solidum* (San Felice), le *Clostridium fœtidum* (Bienstock), sont moins communs dans les eaux.

La recherche des microbes pathogènes anaérobies dans les eaux se trouve facilitée par la méthode que j'ai indiquée. On peut utiliser aussi le chauffage préalable de l'eau à 75° pendant 10 à 15 minutes. Ce chauffage permet la survie des microbes sporulés, notamment du bacille du tétanos, du *Bac. enteritidis sporogenes* et du vibrion septique de Pasteur. Ces microbes, surtout le bacille de Klein, sont communs dans les eaux impures.

Par contre, je n'ai pas trouvé, jusqu'ici, dans les eaux, certains microbes anaérobies pathogènes tels que ceux qui ont été décelés par Veillon et Zuber dans les suppurations gangréneuses (*Bac. fragilis*, *Bac. serpens*, *Bac. furcosus*, *Bac. ramosus*, etc.). Cette constatation négative confirme, pour les anaérobies, une loi que j'ai formulée et d'après laquelle les bactéries pathogènes non sporulées ne présentent, en général dans les eaux naturelles qu'une brève vitalité [2].

1. Le *Bac. nebulosus* diffère du *B. solidus*, du *B. liquefaciens magnus*, des *B. anaerobius* VI, VII et IX de San Felice, soit par ses caractères de culture, soit parce qu'il est immobile. Les mêmes raisons le différencient encore du *B. radiatus* et du *B. spinosus* de Lüderitz, ainsi que du *B. anaerobius liquefaciens* de Sternberg, dont les colonies sont granuleuses. Contrairement au *Pseudo-œdem Bacillus* de Liborius, auquel il ressemble davantage, il n'est pas entouré, à l'examen microscopique, d'une auréole hyaline; il ne dégage pas, comme lui, une abondante quantité de gaz. L'aspect de ses cultures en gélatine est différent. Enfin il n'est pas pathogène pour la souris.

2. H. Vincent, *Revue d'Hygiène*, 1906, p. 545.

IV

SIGNIFICATION DES MICROBES ANAÉROBIES DANS LES EAUX. INDICE ANAÉROBIQUE.

De ce qui précède, il est permis de conclure que les eaux de très bonne qualité ne renferment qu'une proportion infime d'anaérobies stricts et telle qu'il est nécessaire d'en ensemencer plusieurs centimètres cubes pour en obtenir des cultures

L'apparition de quelques microbes anaérobies (2, 5, 10 par centimètres cube) appelle déjà l'attention sur la possibilité d'une souillure, de préférence par la terre, cultivée ou non. Certaines eaux, au début ou au déclin d'une infection plus grave, peuvent offrir la même teneur en anaérobies.

Si le chiffre des anaérobies augmente, il y a probabilité ou même certitude d'une contamination de l'eau par les substances qui contiennent normalement des microbes anaérobies : déjections, humus, fumier, terre cultivée, eaux d'égoûts ou de lavages. L'eau peut montrer 20, 30, 50 colonies anaérobies par centimètre cube, ou même davantage. Telle est la composition microbienne assez habituelle de l'eau de Seine prélevée dans Paris.

Une fréquence plus considérable encore des anaérobies absolus traduit toujours une grave ou très grave contamination de l'eau par des matières organiques. Les tubes de gélatine ensemencés même avec 1 centième de centimètre cube de cette eau, sont constellés de colonies et de bulles gazeuses. Il s'agit alors d'eaux d'égoût, de mare, de lavoir, ou d'une eau souterraine qui reçoit plus ou moins directement des infiltrations fécales.

Lorsqu'on compare la composition microbienne aérobie d'une eau à sa composition anaérobie, on constate, en conséquence, un parallélisme assez accusé entre l'un et l'autre. Toutefois, la proportion des aérobies demeure beaucoup plus élevée que celle des anaérobies vrais. Pour prendre quelques exemples courants, diverses eaux analysées m'ont donné les résultats suivants :

	NOMBRE DE COLONIES PAR C. C.	
	Aérobies.	Anaérobies.
Eau d'un puits........................	980	11
—	1.860	9

	Aérobies.	Anaérobies.
Eau d'un puits........................	14.000	280
—	720	40
Eau de Marne........................	5.600	38
Eau de Seine........................	2.030	7
—	3.000	34
—	23.000	221
—	14.600	73
Eau de Vanne........................	220	1
—	430	2
—	268	0

La formule habituelle que donne la numération comparée des aérobies et des anaérobies, dans les eaux, est donc la suivante : le nombre des anaérobies contenus dans une eau est beaucoup plus faible que celui des aérobies [1]. J'appelle *indice anaérobique* le rapport du chiffre des anaérobies à celui des aérobies : ce rapport est, d'ordinaire, très inférieur à l'unité.

Toutefois, il existe certains cas dans lesquels cette règle n'est pas applicable. A plusieurs reprises, l'analyse de l'eau de *puits*, de *citernes*, de *réservoirs* m'a montré une teneur en anaérobies bien supérieure à celle que pouvait laisser présumer le chiffre des microbes aérobies proprement dits. Il y a plus : la formule habituelle peut quelquefois être renversée et la proportion des anaérobies égaler ou même dépasser celle des aérobies. Ces cas, bien que plus rares, ont, depuis longtemps, fixé mon attention.

La constatation de cette inversion de la formule microbienne d'une eau acquiert, au point de vue bactériologique et hygiénique, une signification spéciale, très importante. *Elle indique que l'eau analysée renferme des matières organiques récentes ou anciennes en voie de putréfaction*, par exemple des cadavres ou des végétaux en décomposition. Elle peut avoir, par conséquent, un grand intérêt au point de vue, non seulement de l'hygiène pratique, mais encore de la médecine légale.

J'ai pu, du reste, vérifier fréquemment l'exactitude de cette conclusion. Dans un puits encombré de végétaux en décomposition et renfermant des cadavres de têtards, le chiffre des anaérobies était de 16,000 celui des microbes aérobies de 14,600.

1. Je rappelle ici, de nouveau, que GUILLEMARD (*loc. cit.*) a montré aussi la progression des anaérobies (vrais et facultatifs) dans certaines eaux malsaines et que le rapport : aérobies-anaérobies « permet seul de déceler le *sens* du contage ». Il en donne pour preuve une analyse de l'eau de Marne qui, avant filtration, renfermait 86 anaérobies pour 1.000 aérobies et, après filtration, 347 anaérobies pour le même chiffre d'aérobies. L'épuration due à la filtration avait, en conséquence, porté surtout sur les aérobies.

L'indice anaérobique était donc de $\frac{16000}{14600}$, soit 1,08.

Dans un autre puits où la quantité des anaérobies était *innombrable*, et de beaucoup supérieure à celle des microbes aérobies, existait le cadavre d'un chien.

Dans un puisard de jardin où se trouvaient des herbes mortes et des vers de terre en putréfaction, le chiffre respectif des aérobies et des anaérobies était de 11,000 et de 19.000 : l'indice anaérobique était de 1.72.

Dans une citerne recevant une eau pure, mais dont le fond était couvert d'un abondant dépôt vaseux, le chiffre des aérobies était de 1.500 par centimètre cube, celui des anaérobies dépassait 6,000 (indice anaérobique = 4).

Je pourrais multiplier les exemples de cette nature. Il est, du reste, facile de démontrer expérimentalement que la présence des anaérobies en proportion anormale trahit toujours, dans les eaux, la fermentation de matières organiques végétales ou animales.

On verse de l'eau de Seine dans deux grands bocaux en verre. Dans l'un d'eux, on agite une poignée d'herbe verte qu'on abandonne ensuite à elle-même. Les deux vases sont exposés à la température et à la lumière diffuse du laboratoire.

On fait alors la numération comparée des aérobies et des anaérobies dans les deux récipients. Voici le résultat constaté :

	EAU DE SEINE (Témoin.)		EAU DE SEINE + herbes.	
	NOMBRE DE COLONIES PAR C. C.			
	Aérobies.	Anaérobies.	Aérobies.	Anaérobies.
Début........	4.900	32	6.660	100
Après 1 jour .	192.000	120	330.000	15.000
— 2 jours.	Innombr.	90	Innombr.	Innombr.
— 6 —	—	110	»	id.
— 8 —	—	184	»	id.
— 15 —	121.000	80	160.000	id.
— 25 —	6.000	18	»	id.
— 35 —	2.100	1	»	id.
— 45 —	520	0	1.200	id.

Ainsi donc la décomposition des végétaux accroît à un degré extraordinaire et pendant une durée très prolongée la quantité des anaérobies contenus dans une eau. Ici, nous voyons que, même après 45 jours, cette quantité était tellement

élevée qu'elle n'a pu être apppréciée, alors que dans le récipient témoin on ne trouvait aucun anaérobie en ensemençant 1 c. c. d'eau.

Si, au lieu de végétaux, on met dans l'eau des matières organiques d'origine animale (viscères d'animaux, cadavres de souris), on constate un résultat identique : la proportion des anaérobies égale ou dépasse celle des aérobies et se maintient telle.

En raison de leur nature même, les eaux de puits, de réservoir ou de citerne sont celles qui donnent le plus souvent cette élévation de l'indice anaérobique ou cette inversion de la formule microbienne, parce que la stagnation des matières organiques y favorise au plus haut point la pullulation des anaérobies. Par contre, les eaux courantes où la végétation de ces derniers microorganismes est beaucoup plus difficile, ne la donnent qu'exceptionnellement.

Ces faits ne font que confirmer combien est précieuse la recherche des anaérobies dans les eaux, en particulier pour les eaux de puits, les réservoirs, les citernes, qu'il peut devenir nécessaire de vider et de désinfecter.

En résumé, une proportion abondante de germes anaérobies constatés dans une eau d'alimentation est un témoignage certain de sa mauvaise qualité. Les eaux pures ne renferment, en effet, que de rares microbes anaérobies (1 à 2 par centimètre cube ou moins encore). Les eaux médiocres, malsaines, ou bien gravement contaminées renferment une gamme de plus en plus forte d'anaérobies qui peut aller de 10, 20, 50... par centimètre cube à un chiffre de 500, 1,000, 10,000 et 15,000, et davantage.

Lorsque — ce qui est le cas le plus commun, — le nombre des aérobies excède, de beaucoup, celui des anaérobies, on peut en conclure que l'eau analysée n'est qu'un véhicule *passif* de matières organiques dangereuses ou non, spécifiques ou banales, qui y sont déversées, mais dont la fermentation est arrêtée ou limitée.

Lorsque, — ce qui est plus rare, — la formule microbienne est renversée (indice anaérobique ≥ 1), ce fait indique l'existence d'un foyer de putréfaction organique *active*, dans cette eau, la fermentation pouvant relever de matières animales ou végétales.

La détermination quantitative et qualitative des microbes

anaérobies, vrais ou obligés contenus, dans une eau doit, en conséquence, faire partie intégrante de la technique d'une analyse bactériologique bien faite. Jointe aux méthodes usuelles de recherche et de dénombrement des saprophytes et des microbes pathogènes, ainsi qu'à la numération précise des colibacilles, dont j'ai antérieurement démontré l'importance, cette détermination fournit toujours un appoint très utile à l'expertise de la valeur alimentaire des eaux potables.

Application de la méthode de distillation fractionnée DE DUCLAUX A LA RECHERCHE ET AU Dosage des acides isobutyrique et valérique normal

PAR M. A. LASSERRE.

On doit à Duclaux[1] une méthode de recherche et de dosage des acides gras volatils, basée sur la distillation fractionnée de solutions étendues de ces acides : on dresse le tableau des rapports de la quantité d'acide recueilli aux diverses phases du fractionnement à la quantité totale d'acide distillé (tableau A), et le tableau des rapports de la quantité d'acide passé dans les différentes phases de la distillation à la quantité totale de l'acide existant dans le balion (tableau B), et l'on obtient ainsi deux séries de chiffres qui sont caractéristiques de l'acide étudié.

La plupart des acides volatils de la série grasse ont fait l'objet de recherches spéciales ; je me suis proposé d'ajouter à leur liste l'acide isobutyrique et l'acide valérique normal.

a) Acide isobutyrique. Dans le tableau suivant, on rapproche les résultats obtenus des nombres trouvés par Duclaux pour l'acide butyrique normal.

	ACIDE ISOBUTYRIQUE		ACIDE BUTYRIQUE	
	A	B	A	B
10	25,0	25,0	17,6	17,3
20	44,8	44,6	33,6	32,7
30	60,4	60,2	47,5	47,0
40	72,8	72,6	60,0	58,5
50	82,2	81,9	70,6	68,8
60	89,1	88,7	79,5	77,5
70	94,0	93,5	86,5	84,3
80	97,1	96,6	92,5	90,5
90	99,0	98,4	97,0	94,6
100	100,0	99,4	100,0	97,5

On voit que ces deux isomères se distinguent nettement l'un de l'autre par leur mode de distillation autant que par leurs autres propriétés physiques. Le calcul des formules repré-

1. *Annales de Chimie et de Physique*, 5e série, t. II, 1874.

sentant la marche de leur distillation, établi suivant le procédé Duclaux, conduit aux deux formules :

Pour l'acide isobutyrique :

$$Bi = 114,3\left(1 - e^{-0,274\frac{l}{L}}\right)$$

Pour l'acide butyrique normal :

$$B = 133,8\left(1 - e^{-0,158\frac{l}{L}}\right)$$

On obtient toujours les mêmes rapports avec divers échantillons d'acide isobutyrique pur, en particulier avec l'acide résultant de la décomposition du sel de calcium obtenu après oxydation de l'alcool isobutylique normal.

Si l'on arrête, au milieu, la distillation d'une solution étendue, et que l'on redistille de la même façon le produit condensé, on retrouve encore les mêmes rapports. La constance de ces résultats est une nouvelle preuve de la pureté physique et chimique de l'acide.

Toutefois, comme les tableaux des valeurs de A et de B sont intermédiaires entre ceux qui sont spéciaux à l'acide isovalérique et à l'acide butyrique normal, on pourrait supposer, *a priori*, qu'ils s'appliquent, non à un acide unique, mais à un mélange d'acide isovalérique avec un de ses homologues inférieurs. S'il en était ainsi, en calculant les proportions des acides mélangés, on devrait trouver les mêmes nombres aux différents stades de la distillation. Or, il n'en est rien, comme le montrent les chiffres suivants calculés à l'aide des tableaux A, par exemple pour les 4e, 5e, 6e et 7e prises.

	PROPORTION D'ACIDE ISOVALÉRIQUE ET			
Nº de la prise	d'acide formique.	d'acide acétique.	d'acide propionique.	d'acide butyrique.
4e	5.6	4.9	3.2	1,5
5e	7.6	6.5	4.0	1,8
6e	10.4	8.7	5,0	2.2
7e	16.4	13.3	7.1	3,0

b) Acide valérique normal. Voici les résultats obtenus avec cet acide, comparés avec ceux que donne l'acide isovalérique (Duclaux) :

	ACIDE VALÉRIQUE NORMAL		ACIDE ISOVALÉRIQUE	
	A	B	A	B
10	25,2	25,0	30,5	30,5
20	45,3	44,0	53,0	53,0
30	61,3	60,9	69,5	69,5
40	73,9	73,4	81,0	81,0
50	83,4	82,8	88,5	88,5
60	90,2	89,6	93,5	93,5
70	94,8	94,1	96,5	96,5
80	97,7	97,0	98,3	98,3
90	99,2	98,5	99,5	99,5
100	100.	99,2	100.	100.

La marche de la distillation de ces deux acides est représentée par les formules suivantes :

Pour l'acide valérique normal :

$$B = 115,18\left(1 - e^{-0,275\frac{l}{L}}\right)$$

Pour l'acide isovalérique :

$$Bi = 106,15\left(1 - e^{-0,389\frac{l}{L}}\right)$$

On démontrerait, comme pour l'acide isobutyrique, que les valeurs trouvées pour l'acide valérique normal s'appliquent bien à un acide unique, pur, et non à un mélange d'acides gras volatils. Ces constantes physiques, comme toutes les autres, le différencient nettement de son isomère.

Si l'on rapproche les tableaux relatifs à l'acide isobutyrique, de ceux relatifs à l'acide valérique normal, on remarque qu'ils sont presque identiques, bien que ces deux acides se distinguent l'un de l'autre d'une manière absolue par toutes leurs autres propriétés physiques et leur puissance de saturation. Voici le tableau des propriétés des deux acides étudiés :

		ACIDE isobutyrique.	ACIDE valérique normal
Densité à 15°		0,965	0,956
Point d'ébullition		153°	184°
Indice de réfraction (D) à 20°		1,3930	1,4083
Compte-gouttes Duclaux. Nombre de gouttes	Solution à 0,10 %.	104.	109,5
	— 0,50 %.	118,5	133.
Sel de Baryum. Ba %		44,06	40,7
Saturation par la potasse $\frac{acide}{KOH}$		1,64	1,88

Il résulte de cette remarque que, si l'on peut doser isolément

ces deux acides et les différencier des autres acides gras volatils, on ne peut cependant pas les distinguer l'un de l'autre à l'aide des distillations fractionnées, conformément à la méthode de Duclaux. Au contraire, s'ils sont respectivement mélangés avec leurs isomères, il sera possible de les caractériser et de les doser.

Dans ce mode de distillation, les acides distillent généralement d'autant plus vite que leur point d'ébullition est plus élevé ; or, si l'on rapproche les dernières valeurs de B des températures d'ébullition, on trouve, pour les quatre acides considérés ici, le tableau suivant :

	POINTS D'ÉBULLITION	B.
Acide isobutyrique	153°	99,4
— butyrique normal	160°	97,5
— isovalérique	165°	100.
— valérique normal	184°	99,2

On voit ainsi que si d'un homologue à l'autre la règle générale est vérifiée, elle est au contraire en défaut d'un isomère à l'autre, ce qui constitue une anomalie intéressante à signaler.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE FEVRIER 1907 N° 2

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Études épidémiologiques et prophylactiques du paludisme.

Cinquième campagne en Algérie — 1906

(*Suite et fin.*)

Par les Drs Edmond SERGENT et Étienne SERGENT

PARTIE SPÉCIALE

Dans l'extension progressive et prudente des nouveaux procédés de prophylaxie antipaludique, poursuivie depuis cinq années en Algérie, nous avons obéi au plan suivant :

1° Faire connaître l'antipaludisme nouveau, par de bonnes leçons de choses, à la plus grande étendue possible du territoire, en l'appliquant aux *chemins de fer* qui couvrent le pays des mailles de leurs réseaux. Les agents sont souvent exposés aux fièvres, leur discipline répond de leur soin à observer les consignes, et la défense des gares est très instructive pour le public, car ce sont des lieux de passage fréquentés ;

2° Démontrer l'efficacité des mesures conseillées, dans des *champs de démonstration*, choisis dans les localités les plus malsaines, et où l'antipaludisme soit étroitement surveillé ;

3° Pour l'extension graduelle de l'antipaludisme aux *communes fiévreuses*, découper le *territoire en sections*, étudiées et attaquées l'une après l'autre. Nous avons commencé par la plaine de la Mitidja, riche, populeuse et proche d'Alger. Cette plaine a été partagée en 4 sections. Nous nous sommes

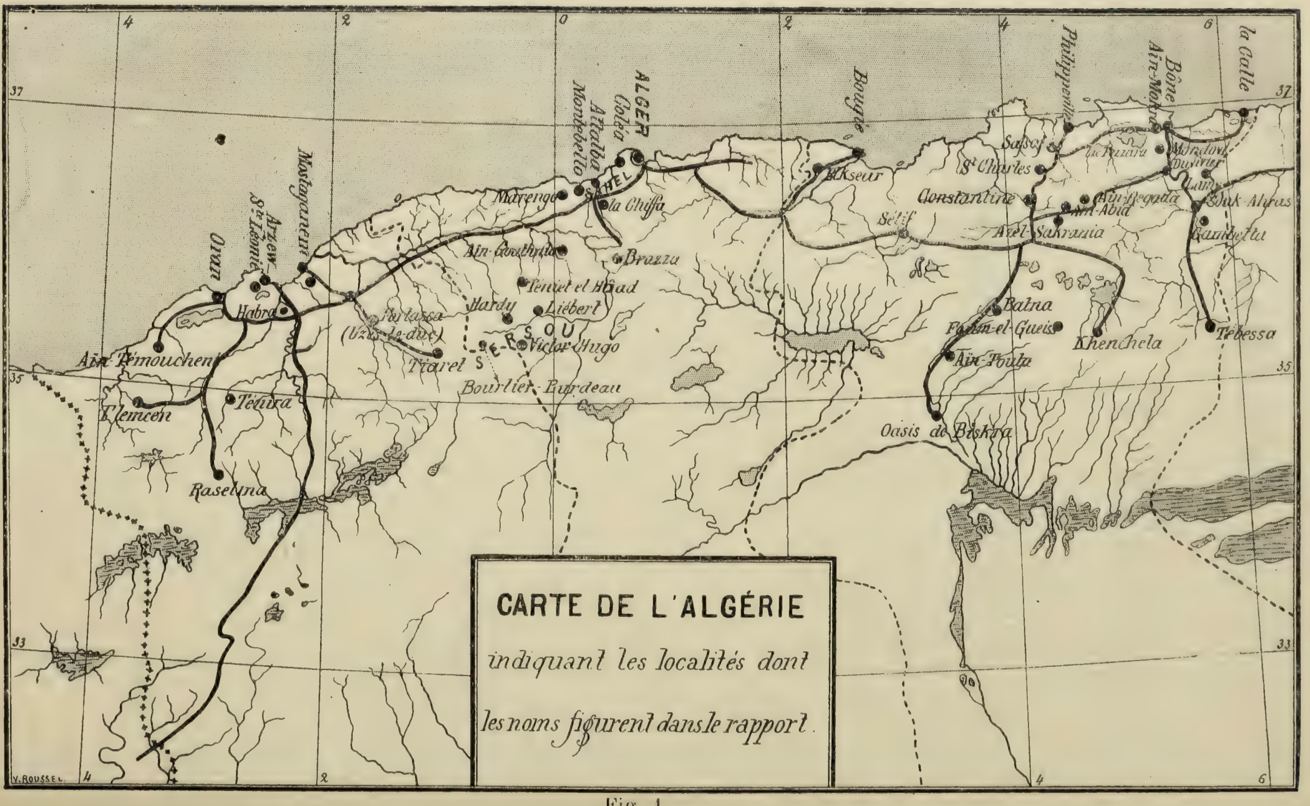

CARTE DE L'ALGÉRIE
indiquant les localités dont
les noms figurent dans le rapport.
la Calle
Bône
Aïn-Mokra
Philippeville
Saf-saf
St Charles
Constantine
Aïn-Abid
Souk-Ahras
Tebessa
Sétif
Batna
Fontaine-el-Gueis
Aïn-Touta
Khenchela
Oasis de Biskra
Bougie
El Kseur
ALGER
Coléa
Attalba
Montebello
SAHEL
la Chiffa
Marengo
Aïn-Bouthida
Brazza
Teniet el Haad
Hardy
Liébert
Victor Hugo
Bourlier
Burdeau
Tiaret
Mostaganem
Arzew
Ste Léonie
Oran
Habra
Aïn-Témouchent
Tlemcen
Téhira
Raselma
V. ROUSSEL

Fig. 1.

occupés en 1906 de la section occidentale, limitée à l'est par la rivière la Chiffa, au nord par le Sahel, à l'ouest par les rivières qui se jettent dans l'oued Nador, au sud par une ligne suivant le pied de l'Atlas. Ce rectangle mesure environ 25 kilomètres de longueur, dans la direction est-ouest, et 10 kilomètres en moyenne de largeur, dans la direction nord-sud. Nous avons mesuré l'intensité du paludisme dans les différentes agglomérations, par l'index endémique.

Nous ne nous sommes occupés pour le moment que des centres où le pourcentage des grosses rates dépasse 15 0/0. Il nous a semblé que le plus urgent était de ramener à ce taux les index des contrées les plus menacées.

La défense de ces sections ne sera jamais complète d'emblée; la première année, elle ne peut être qu'amorcée : dans les centres européens les plus importants, dans les agglomérations indigènes nombreuses, les procédés les plus indiqués sont mis en œuvre, aux frais des communes et de l'État. Les fonctionnaires exposés au paludisme sont munis de la protection mécanique. Une propagande active est faite auprès des propriétaires aisés pour qu'ils les adoptent à leur tour. Il faudra toujours plusieurs années pour que l'opinion publique soit ébranlée, que les efforts se coordonnent, et que le fruit de ces travaux soit recueilli;

4° En dehors de ces sections défendues, par lesquelles se fera l'avancement méthodique de l'antipaludisme en Algérie, nous organisons la prophylaxie, ou simplement étudions l'épidémiologie des localités qui nous sont signalées par l'administration, ou des particuliers.

1° Chemins de fer.

Sur le conseil de M. Boulogne, conseiller de gouvernement, président de la Commission du paludisme, nous avons demandé qu'un spécialiste fût désigné sur chaque réseau pour s'occuper de l'antipaludisme. Ces spécialistes ont été nommés déjà pour les chemins de fer de l'État et du P.-L.-M., et nous nous félicitons de leur précieuse collaboration. Techniciens, ils peuvent innover des procédés de protection, faire des essais comparatifs dans les différentes gares, profiter de l'expérience qui résulte

de telles études sur un vaste réseau, et enfin, lorsqu'un progrès est réalisé sur un point, pouvoir le faire généraliser de suite partout ailleurs.

Pour ne pas retarder la remise de ce rapport, nous reportons à plus tard la publication des statistiques de morbidité paludéenne, toujours lentes à centraliser, et pour lesquelles, dans l'impossibilité d'avoir un diagnostic posé par un confrère, rarement appelé pour les fièvres, nous sommes obligés de nous fier aux renseignements des agents.

Etat. — M. Gautard, chef de district, a été chargé de s'occuper spécialement de l'antipaludisme sur tout le réseau. Nous lui devons des essais intelligents de procédés de défense mécanique. Par des tournées régulières, il a surveillé tout l'été l'installation et le fonctionnement de cette défense.

26 gares et 58 maisonnettes ont été dotées de la défense mécanique. (Réseaux : 197 km. + 698 km.)

La gare de Fortassa, seule, a été l'objet de mesures antilarvaires bien surveillées, pour permettre au personnel de bien se rendre compte de ce qu'elles doivent être et de leur efficacité. Cette leçon de choses ayant produit son effet, ces mesures pourront être étendues à d'autres gares.

Ouest-Algérien. — Sur le réseau oranais (lignes de Sainte-Barbe du Tlélat à Tlemcen, 139 kilomètres, et la Sénia à Aïn-Temouchent, 76 kilomètres), M. Elliker, ingénieur, chef de section principal chargé du service de la voie, dirige lui-même avec un grand intérêt la défense mécanique qui est appliquée à environ 10 gares et 9 maisonnettes.

La ligne Blida-Berrouaguia (83 kilomètres) compte 3 gares protégées par les grillages et profitant de mesures antilarvaires bien conduites (M. Seal, ingénieur en chef).

P.-L.-M. — M. Treuvelot, chef de bureau du service de la voie, a été désigné pour s'occuper spécialement de l'antipaludisme, et nous sommes heureux de sa précieuse collaboration. Sur la ligne Alger-Oran (421 kilomètres) et la ligne Constantine-Philippeville (87 kilomètres), 11 gares et 16 maisonnettes sont dotées de grillages. Plusieurs d'entre elles profitent, en plus, de mesures antilarvaires.

Nous avons surveillé spécialement la gare de Birtouta-Chebli dans la plaine de la Mitidja, où les formes du paludisme

étaient très graves (réservoir de virus : ouvriers d'une briqueterie voisine — gîtes : grands trous résultant de la prise de terre). En 1906, pour la première fois. 0 cas de première invasion.

Est-Algérien. — Comme en 1905, une grande négligence a présidé à l'élaboration, la surveillance et l'exécution des ordres de service relatifs à l'antipaludisme : défense mécanique et mesures antilarvaires.

Toujours 9 gares et 12 maisonnettes défendues (réseau de 464 + 53 + 89 + 202 + 54 km).

Sur la nouvelle ligne d'Aïn-Beïda à Khenchela, les habitants de la gare de Raghaï, non protégée, ont été très éprouvés par le paludisme, exactement selon les prévisions que nous avions formulées dans un de nos rapports du printemps 1906, en raison de la coexistence du réservoir de virus et des gîtes à Anophélines.

Bône-Guelma. — La défense mécanique est en général très bien installée par les chefs de section auxquels nous sommes heureux de rendre hommage.

Réseau algérien : 203 + 111 + 128 km.

12 gares protégées, 10 maisonnettes isolées, plus toutes celles faisant partie des gares.

Réseau tunisien : 2 gares et 10 maisonnettes.

La défense des gares de Pont-de-Trajan et d'Oued-Zerga (Tunisie) reste un modèle de ce que peuvent faire les petites mesures antilarvaires (M. Pellegrin, chef de district).

Bône--Mokta-Saint-Charles. — M. de Cerner, directeur, étend graduellement la défense mécanique, très bien faite, à *toutes* les gares et maisonnettes de cette ligne (99 kilomètres) qui traverse un pays très fiévreux (7 gares et 10 haltes).

Tramway de Bône à La Calle. — Trois gares sont grillagées (sur 88 kilomètres).

Chemins de fer sur routes d'Algérie. — (C.-F.-R.-A.) (37 + 46 + 29 + 68 kilomètres). Une seule gare, Mazafran (ligne d'Alger à Coléa), profite de la défense mécanique.

2° Champs de démonstration (expériences directes).

A Montebello (3e campagne), les 3 mesures sont appliquées : antilarvaires, mécaniques, quininisation.

A Tourville (1re campagne), 2 mesures : antilarvaires et quininisation.

A Aïn-Tedeles (2e campagne) : quininisation seule.

I. Village de Montebello.

Pour les conditions du paludisme, voir ces *Annales*, t. XIX, p. 161, et t. XX, p. 371.



Fig. 2. — Petites mesures antilarvaires à Montebello.

Réservoir de virus. — A diminué du nombre des Européens guéris l'an passé, au nombre de 33. D'autre part, 9 Européens, infectés ailleurs, ont apporté le virus à Montebello.

Au début des chaleurs, en 1906, de nombreux indigènes sédentaires avaient de grosses rates (enfants et adultes). En septembre, 33 Kabyles, dont 5 porteurs de grosses rates, viennent grossir le nombre des anciens infectés.

Gîtes à Anophélines. — Les tableaux suivants, fournis par le service météorologique d'Alger, montrent que la chute d'eau a été plus considérable dans l'hiver 1905-06 que dans l'hiver précédent. En effet, la cuvette du lac Halloula fut remplie, cette année, jusqu'à un niveau bien supérieur à celui des années précédentes. Les canaux de dessèchement débordent encore le 15 mai, leurs rives sont encore à cette date complètement sous l'eau. Or les larves ont été trouvées dès les premiers jours de mai. On conçoit, par suite, quels immenses gîtes inaccessibles étaient constitués et quelle devait être la difficulté des mesures antilarvaires. Le tableau suivant indique le niveau maximum atteint par l'eau à l'échelle du lac Halloula, de l'année 1902 à l'année 1905.

Années.	Mois.	Hauteur.
1902.	En décembre..................	1 mètre 71
1903.	En janvier..	» — 79
1904.	En janvier...................	1 — 88
1905.	En mai	» — 70
1906.	En février,...................	1 — 45

Il y a lieu de remarquer l'époque tardive à laquelle le maximum a été atteint en 1906.

Le tableau suivant indique la quantité d'eau recueillie au pluviomètre d'octobre à octobre, depuis l'année 1901, à Alger, dont Montebello est peu éloigné.

Années.	Oct.	Nov	Déc.	Janv.	Févr.	Mars.	Avr.	Mai.	Juin	Juill	Août	Sept	TOTAUX.
1901-02	167.3	71.1	90.4	18.4	43.9	70.»	53.5	40.8	».8	14.5	15.8	32.»	618.5
1902-03	101.1	61.3	169.3	26.3	13.9	43.1	40.2	10.7	50.3	13.7	».4	4.9	535.2
1903-04	89.»	158.8	125.5	282.2	86.2	105.7	94.4	1.3	5.2	Gouttes	».7	41.5	990.5
1904-05	33.5	61.2	103.3	125.1	89.3	69.5	41.4	111.»	19.1	».6	4.7	19.2	677.9
1905-06	92.8	80.4	110.8	117.9	143.1	60.3	46.5	5.9	8.9	10.7	»	55.1	732.4

La période de chaleur anormale montrée en octobre par le tableau suivant a favorisé la ponte et l'élevage de plusieurs générations de larves tardives, qui n'auraient pas existé par une température normale.

Année 1906.		Mars.	Avril.	Mai.	Juin.	Juillet.	Août.	Sept.	Octob.
Minima.	Les plus bas.	4.0	8.2	12.0	15.8	18.8	19.4	16.0	12.8
	Moyens.	10.9	12.3	14.8	18.5	20.5	22.2	20.7	17.2
Maxima.	Les plus hauts.	23.2	28.2	31.4	37.5	34.6	36.8	36.2	34.2
	Moyens.	18.9	18.9	22.5	26.8	28.6	29.8	28.4	25.4

Mesures antilarvaires. — Confiées au chef de chantier, Tardy, qui a employé 6 ouvriers au maximum. Une note écrite lui était laissée à chaque visite bimensuelle. Un faucardement ou désherbage a été exécuté tous les mois, des derniers jours d'avril au début d'octobre.

Un pétrolage a été pratiqué tous les 15 jours, de la fin d'avril aux premiers jours de novembre (à cause des chaleurs exceptionnelles du mois d'octobre).

Gîtes décrits dans les précédents rapports, dans une zone de 1,500 mètres de rayon autour du village.

Mesures contre les adultes. — Projection de pétrole dans les recoins des écuries, à la pompe de jardin. suivie de la projection d'une quantité double d'eau.

Défense mécanique. — Tous les habitants ont leurs demeures grillagées, sauf 4 familles qui refusent les treillis métalliques ou les déclarent inutiles en raison de l'efficacité des mesures antilarvaires. L'adaptation des cadres aux ouvertures des maisons est difficile par suite de la mauvaise construction de celles-ci. En général, les grillages ont été bien entretenus.

Quininisation du réservoir de virus. — (Indigènes voisins.) Assurée par le garde champêtre européen. Doses alternantes, une dragée de 20 centigrammes un jour, deux dragées le lendemain, pour les adultes. Une dragée par jour pour les enfants; du début de juin à fin octobre. La quininisation a été étendue cette année à un plus grand nombre d'indigènes qu'en 1905 : 150 au minimum. Il faut remarquer que, sauf de rares exceptions, les Européens du village de Montebello ne se sont pas soumis à la quininisation préventive et n'ont pris aucune précaution hygiénique.

Dépenses. — Achat du treillis métallique : 105 fr. 10; construction et pose des cadres par un menuisier : 188 fr. 81.

Achat de la quinine : 294 francs; indemnité allouée au quininisateur : 450 francs. Frais de faucardements et de pétrolages : Main-d'œuvre : 904 fr. 50; pétrole : 810 francs; total : 1,714 fr. 50.

Résultats. — I. Dans la zone pétrolée, on n'a trouvé qu'une seule fois de jeunes larves de 5 à 6 jours, près de la limite de cette zone, et 12 jours après le dernier pétrolage.

Témoins : Dans les canaux situés en dehors de la zone protégée, ont pullulé tout l'été des myriades de larves d'Anophélines.

II. On a vu quelques Anophélines adultes dans le village, en dehors des habitations, les premiers jours de juin (7 juin). A partir du 25 juin, on ne put en capturer un seul, malgré les recherches les plus minutieuses, jusqu'à la fin de l'annee.

Témoins : Cette absence des Anophélines au village, en 1906, contrastait non seulement avec leur abondance en 1903, 1904, mais aussi avec leur grand nombre, cette même année 1906, dans la ferme Mahé, à 2 kilomètres de Montebello (jusqu'en fin juillet).

III. — Sur 71 Européens indemnes ou sensibles qui ont passé l'été 1906 à Montebello, 0 cas de première invasion. (Sur ces 71 personnes, 4 nouveau-nés, dont un est mort, au milieu de l'été, d'une affection intestinale.)

Sur 21 anciens infectés (dont 9 provenant en 1906 d'autres localités), 13 ont eu des rechutes (plus faibles que leur 1re infection pour les infectés de 1905).

M. le Dr Giudicelli, médecin de colonisation résidant à Marengo, n'a pas été appelé une seule fois à Montebello pour paludisme en 1906.

Témoins : Dans les environs de Montebello, notamment dans la région qui longe le canal de dessèchement du lac Halloula, 27 Européens et 2 ouvriers indigènes ont contracté un paludisme de 1re invasion, le plus souvent à forme très grave. Le Dr Roux de Badilhac a observé un cas de mort par accès pernicieux (près d'Attatba). L'observation de ces malades a été aimablement prise pour nous par M. le Dr Roux de Badilhac, médecin de la commune d'Attatba, et M. le médecin-major Folly, médecin en chef de l'hôpital de Coléa, que nous sommes heureux de remercier de leur collaboration.

Depuis six ans qu'il exerce dans le pays, le Dr de Badilhac n'avait pas encore vu une recrudescence aussi violente du paludisme.

Nous extrayons d'une de ses lettres les phrases suivantes : « Ces hommes venant de la ferme Kandoury (sur la route entre Montebello et Attatba) présentaient des accès particulièrement graves avec faiblesse extrême du pouls nécessitant des injections de caféine. La commune d'Attatba m'a fourni aussi le mois dernier un accès pernicieux chez un homme de 28 ans. Cet accès à forme algide a entraîné la mort dans l'espace de 10 heures. »

IV. — Les résultats obtenus par la quininisation des indigènes sont indiqués par la comparaison des index endémiques suivants : Les rates palpées au printemps et en automne, sont :

Montebello Traités	D'hypertrop. redevenues normales	Restées normales	HYPERTROPHIÉES Diminuées	Restées de même grosseur.	Augmentées.
0 à 5 ans............	»	2	»	3	2
5 à 10 ans...........	2	3	2	3	4
10 à 15 ans...... ...	2	2	4	2	4
Plus de 15 ans.......	5	31	7	8	10
Total.....	9	38	13	16	20
Montebello Témoins (ferme Mahé)	»	2	»	3	3

II. Tourville, faubourg d'Arzew.

Avec la collaboration du Dr Bories.

Pour les conditions du paludisme, voir t. XX, p. 384.

Réservoir de virus. — Est purement européen. A été accru, en automne 1906, par l'arrivée de plusieurs familles infectées ailleurs (Sainte-Léonie).

Mesures antilarvaires. — M. Petit, conducteur principal des Ponts et Chaussées, chargé de la surveillance de ces mesures, avait choisi un chef de chantier qui, avec quelques ouvriers, procéda au débroussaillement, à la régularisation, au pétrolage de l'oued Magoun, de l'embouchure jusqu'à environ 200 mètres au delà des dernières maisons (sur une longueur de 1,680 mètres). Une note écrite était laissée au chef de chantier à chacune de nos visites mensuelles. Ces mesures ont été pratiquées de la première quinzaine de mai à fin octobre.

Près de l'embouchure, les pétrolages surtout ont été nécessaires, plus haut les mesures ont surtout consisté en régularisation et nettoyage du lit de l'oued.

Défense mécanique. — Nulle.

Quininisation. — Confiée à l'adjoint spécial, M. Oliva. Dura du début de juin à fin octobre, au profit de plus de 200 personnes. Dose préventive de 20 centigrammes par jour (une dragée) pour un adulte ou un enfant. Les enfants surtout ont été quininisés, et en général les porteurs de grosses rates, les fébricitants, et les personnes demandant à suivre la cure préventive.

Dépenses. — Achat de la quinine : 252 francs. Les frais de distribution du médicament par le quininisateur et ceux entraînés par les faucardements

et pétrolages ont été couverts largement par une subvention de 2,000 francs allouée par l'Etat à la commune.

Résultats. — I. A partir du moment où le cours de l'oued fut régularisé, la découverte de larves devint très difficile.

Témoins : Des larves pullulèrent tout l'été en amont et au barrage (à 3 km.).



Fig. 3. — Tourville, faubourg d'Arzew.

II. On ne put jamais capturer d'adultes en 1906.

Témoins : Les adultes étaient facilement trouvés l'année précédente. En 1906, ils ont été très nombreux tout l'été à la ferme B., à 350 mètres de la zone protégée.

III. M. le Dr Bories, médecin communal; M. le Dr Gautray, d'Arzew; M. le médecin-major Chassin, qui remplaça quelque temps le Dr Bories, ne nous ont pas signalé un seul cas de première invasion à Tourville, sur 900 habitants. Par une recherche extrêmement minutieuse, nous avons découvert un

cas de première invasion, confirmé par l'examen microscopique du sang, sur les 15 nouveaux-nés, ayant passé l'été à Tourville. Encore l'origine de ce cas est douteuse, le nouveau-né ayant passé un mois d'été hors de Tourville, dans une localité infectée.



Fig. 4. — Exécution des petites mesures antilarvaires à Tourville.

Témoins : A 350 mètres de la zone protégée, à la ferme B., 2 cas de première invasion, dont l'un très grave, sur quatre personnes indemnes (coïncidence avec la présence de très nombreux Anophélines qui sont absents dans la zone protégée).

A 6 kilomètres de Tourville, village de Sainte-Léonie (voir t. XX, p. 384, pour les conditions du paludisme), environ 300 habitants : les médecins locaux nous ont signalé un cas de première invasion et un cas de mort par accès pernicieux chez

un ancien infecté (Dr Bories). Les cas sont certainement bien plus nombreux, les médecins n'étant appelés que pour les formes très graves. Les habitants, l'adjoint spécial à leur tête, réclament avec insistance les mesures dont ils ont constaté le bon effet chez leurs voisins de Tourville.



Fig. 5. — Lit de l'oued Magoun après l'exécution des petites mesures antilarvaires à Tourville.

Dans deux fermes situées entre Sainte-Léonie et Tourville, 12 cas de première invasion chez 12 nouveaux venus (dont 2 nouveau-nés).

IV. Les tableaux suivants donnent les variations des index endémiques chez les traités et chez les témoins.

Les rates, palpées au printemps et en automne, sont :

Tourville Traités régulièrement.	D'hypertrop. redevenues normales.	Restées normales	HYPERTROPHIÉES Diminuées.	Restées de même grosseur.	Augmentées.
0 à 5 ans	2	8	1	1	»
5 à 10 ans	7	7	10	»	»
10 à 15 ans	3	10	4	»	»
0 à 15 ans	12	25	15	1	»
Plus de 15 ans	3	12	3	»	»
Total	15	37	18	1	»
Tourville. Traités irrégulièrement.					
0 à 5 ans	»	6	»	»	»
5 à 10 ans	3	17	3	3	1
10 à 15 ans	2	5	1	1	1
0 à 15 ans	5	28	4	4	2
Plus de 15 ans	»	2	»	»	»
Total	5	30	4	4	2
Sainte-Léonie. Témoins.					
0 à 5 ans	»	6	1	2	7
5 à 10 ans	»	9	1	2	10
10 à 15 ans	»	»	»	»	3
0 à 15 ans	»	15	2	4	20
Plus de 15 ans	»	3	»	3	2
Total	»	18	2	7	22

III. — Douars d'Aïn-Tedeles.

Pour les conditions du paludisme, voir t. XX, p. 379.

Gîtes à Anophélines. — Les principaux gîtes à Anophélines n'ont été aucunement influencés par le creusement des canaux de dessèchement qui traversent leur région. Ils contiennent toujours autant d'eau, nous y avons trouvé des larves d'Anophélines, ils sont par suite toujours aussi dangereux.

Quininisation. — A été la seule mesure prise : elle a été étendue en 1906 à un second douar (Ouled Hadri et Bou-Aza). Confiée à M. L'Huilier.

Doses : Une dragée de 20 centigr. de bichlorhydrate chaque jour pour un adulte ou un enfant. 240 personnes furent traitées ; du début de juin à fin octobre. Les témoins sont fournis par les deux douars Bou Khouça et Ouled Ameur, situés à plusieurs kilomètres.

Dépenses. — Achat de la quinine : 302 fr. 40. Frais de quininisateur : 500 francs.

Résultats. — Sont fournis par la comparaison des tableaux d'index endémiques suivants, relevés avant, pendant et après la saison fiévreuse, chez les traités et chez les témoins.

A noter que le douar Bou Khouça, témoin, demande instamment à être quininisé l'an prochain.

Les rates, palpées au printemps et en automne, sont :

Douars traités O. Hadri, O. Bouaza, Si Djelloul.	D'hypertrop. redevenues normales.	Restées normales.	Hypertrophiées		
			Diminuées.	Restées de même grosseur.	Augmentées.
0 à 5 ans	3	4	8	3	1
5 à 10 ans	7	2	17	3	»
10 à 15 ans	»	»	19	4	4
0 à 15 ans	10	6	44	10	5
Plus de 15 ans	5	17	20	11	3
Total	15	23	64	21	8

Douars témoins Bou Khouça, O. Ameur.	»	»	»	»	»
0 à 5 ans............	1	»	1		2
5 à 10 ans...........	»	»		3	3
10 à 15 ans..........	»	»	1	4	4
0 à 15 ans...........	1	»	3	11	9
Plus de 15 ans.......	»	2	»	2	4
Total................	1	2	3	13	13

3° Extension de l'antipaludisme.

1re *section de la Mitidja.*

Cette extension n'a, bien entendu, pas pour but d'appliquer du premier coup des mesures antipaludiques parfaites sur cette vaste zone, ce qui serait impraticable, mais de les amorcer sur les points les plus fiévreux.

Réservoir de virus. — Le quadrilatère de la 1re section de la Mitidja comprend les villages de la Chiffa, Mouzaïaville, El Affroun (avec le centre de Bou-Roumi), Ameur-el-Aïn, Bourkika, Marengo, Meurad, Montebello, Attatba.

Le réservoir de virus y est évalué au printemps et en automne 1906, grâce aux index endémiques qui donnent les chiffres suivants :

	PRINTEMPS										AUTOMNE									
	De 0 à 5 ans.		De 5 à 10 ans.		De 10 à 15 ans.		Total des enfants de 0 à 15 ans.		Adultes de plus de 15 ans.		De 0 à 5 ans.		De 5 à 10 ans.		De 10 à 15 ans.		Total des enfants de 0 à 15 ans.		Adultes de plus de 15 ans.	
	Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :	
	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.	Sujets.	Rates.
Montebello (traités)	7	5	14	11	14	12	35	28	61	30	7	6	14	9	14	10	35	25	61	25
Marengo (traités et non traités)	23	4	22	7	7	5	32	16	37	14	23	5	22	6	7	4	32	15	37	12
Attatba (traités et non traités)	13	7	14	10	5	2	32	19	35	13	13	6	14	8	5	2	32	16	35	13
Bourkika (non traités)	4	0	4	1	6	3	14	4	12	2	4	0	4	2	6	4	14	6	12	2
Ameurel-Aïn (non traités)	2	0	10	2	4	1	16	3	14	0	2	0	10	4	4	1	16	5	14	0
El Affroun (non traités)	13	2	5	1	7	1	25	4	34	5	13	0	5	1	7	2	25	3	34	5
La Chiffa (traités et non traités)	7	4	7	6	3	2	17	12	34	18	7	3	7	5	3	2	17	10	34	17
Mouzaïaville (non traités)	8	1	5	0	13	0	26	1	27	1	8	0	5	0	13	0	26	0	27	2
Total							217	87	254	83							217	80	254	76

Printemps :
Total général.............. 471 sujets.
— — .... 170 rates.
Soit : 36,09 0/0 de rates.

Automne :
Total général.......... 471 sujets.
— — .... 156 rates.
Soit : 33,1 0/0 de rates.



Fig. 6. — Plaine de la Mitidja, et Sahel d'Alger.

Nous ne nous sommes pas occupés en 1906 des villages : El Affroun, Bou-Roumi, Bourkika, Ameur-el-Aïn, Meurad, Mouzaïaville, où l'index est inférieur à 15 0/0.

Le maire de la Chiffa s'oppose à la quininisation des indigènes de son village où l'index est pourtant élevé. La défense ne porte donc que sur les villages de Marengo et Attatba, Montebello étant déjà notre champ de démonstration.

Gîtes à Anophélines. — Il y a deux Mitidja, que séparerait une ligne fictive tracée suivant l'axe de la plaine, et qui passerait par Boufarik, Oued-el-Alleug, Marengo. Au sud de cette ligne, la plaine se relève jusqu'au pied de l'Atlas, pas de sources, sol aride, disette d'eau. Au nord, au contraire, les eaux sourdent de partout, souvent artésiennes, se répandant en marécages.

Au sud, les gîtes ne se sont constitués que là où l'irrigation est mal faite (sauf près des oueds). Au nord, les gîtes sont ininterrompus.

Si l'on jette les yeux sur la carte, on constate un parallélisme frappant entre cette distribution des gîtes et la répartition des index endémiques graves ou bénins.

Village de Montebello. — Déjà étudié comme champ de démonstration. Voir plus haut.

Bourg de Marengo. — La partie centrale du bourg est indemne de fièvres. Le *quartier de l'abattoir*, le plus malsain, est seul défendu.

I. — Les *mesures antilarvaires* consistent dans l'entretien des fossés de dessèchement d'une portion marécageuse du ravin de l'abattoir et dans le pétrolage bimensuel des eaux stagnantes.

II. — La *quininisation* journalière fut confiée à un Européen, 20 centigrammes le premier jour (une dragée), 40 centigrammes le lendemain, du début de juin à fin octobre.

120 indigènes au minimum furent traités.

Dépenses : Achats de la quinine, 226 fr. 80; frais de quininisateur, 500 francs.

Main-d'œuvre, 273 fr. 50. Pétrole, 105 fr. 30. Total, 378 fr. 80.

Résultats. — I. Les larves d'Anophélines furent toujours absentes de la zone protégée.

II. Nous connaissons un seul cas de 1re invasion sur dix nouveau-nés indigènes. Les tableaux suivants donnent les index endémiques chez les traités et chez les témoins, avant et

après la campagne. Ces témoins sont constitués par les indigènes des autres quartiers du village, moins fiévreux.

Du printemps à l'automne, les ratés sont :

MARENGO Abattoir Traités.	D'hypertrop. redevenues normales.	Restées normales.	HYPERTROPHIÉES Diminuées	HYPERTROPHIÉES Restées de même grosseur.	HYPERTROPHIÉES Augmentées.
0 à 5 ans...........	1	10	1	»	»
5 à 10 ans...........	»	4	»	»	1
10 à 15 ans..........	»	»	»	»	1
0 à 15 ans...........	1	14	1	»	2
Plus de 15 ans.......	2	11	»	2	»
Total................	3	25	1	2	2
MARENGO quartiers O. N. S. Témoins.	»	»	»	»	»
0 à 5 ans............	»	8	»	»	3
5 à 10 ans..........	1	11	1	»	4
10 à 15 ans.........	1	2	1	1	1
0 à 15 ans...........	2	21	2	1	8
Plus de 15 ans.......	»	12	»	2	8
Total................	2	33	2	3	16

Village d'Attatba. — Pour les conditions du paludisme, voir t. XIX, p. 131.

Quininisation régulière, quotidienne (20 centigrammes le 1er jour, 40 cen-

tigrammes le 2e jour) de tous les indigènes du quartier ouest (le plus infecté) et des porteurs de grosses rates et des fébricitants du quartier est : 100 personnes au minimum, par Mme Verrières, femme du secrétaire de la mairie.

Dépenses : Achat de la quinine, 189 francs ; frais de quininisateur, 450 francs.

Les tableaux suivants donnent les index endémiques chez les traités et les témoins, avant et après la campagne. Les rates, du printemps à l'automne, sont :

			HYPERTROPHIÉES		
Attatba ouest. Traités	D'hypertrop. redevenues normales.	Restées normales.	Diminuées.	Restées de même grosseur.	Augmentées.
0 à 5 ans...........	1	3	4	»	1
5 à 10 ans..........	1	3	3	3	»
10 à 15 ans.........	»	2	1	1	»
0 à 15 ans..........	2	8	8	4	1
Plus de 15 ans......	»	11	4	2	2
Total...............	2	19	12	6	3
Attatba est. Témoins.	»	»	»	»	»
0 à 5 ans...........	1	3	»	»	»
5 à 10 ans..........	1	1	»	1	1
10 à 15 ans.........	»	1	»	»	»
0 à 15 ans..........	2	5	»	1	1
Plus de 15 ans......	»	11	»	»	5
Total...............	2	16	»	1	6

A Attatba, la quininisation du réservoir de virus ne paraît pas avoir encore eu de l'influence sur la santé des Européens du village. Sur 5 personnes nouvelles venues, 3 ont été infectées (réinfection chez une sensible, première infection chez deux indemnes). Les deux autres personnes nouvelles venues, qui se quininisaient, n'ont rien eu. Les autres Européens ne se sont pas quininisés et n'ont pris aucune précaution hygiénique.

Fonctionnaires et employés de l'État.

Montebello. — Ont été grillagés : le receveur des postes et l'institutrice, qui, de plus, ont profité des mesures antilarvaires générales (0 cas).

Barrage de Meurad. — La maison du barragiste est grillagée (réparations trop tardives). Tous anciens infectés.

Index endémiques : au printemps, 9 sur 17.

El Affroun. — Maison cantonnière en dehors du village, sur les bords de l'oued Djer, gîte dangereux. Tous anciens infectés. Défense mécanique incomplète.

Attatba. — Ont été grillagés : le facteur-receveur des postes (sa femme et lui sont indemnes, le sont restés en 1906) ; le facteur (ancien infecté), a quelques rechutes ; sa femme, infectée, n'en a pas en 1906. L'institutrice, dont l'habitation a été grillagée tardivement, a présenté un cas douteux, qui aurait été contracté avant la défense mécanique.

Camp Halloula. — Chantier des ponts et chaussées. Pour les conditions du paludisme, voir t. XX, p. 377.

Défense mécanique seule (quelques défectuosités) dont ne profitent qu'une douzaine d'ouvriers. Au moins une première invasion et 2 rechutes graves.

Vingt à trente ouvriers couchèrent sans défense mécanique au camp, ou sous des tentes, près du canal : chez eux, au moins 4 cas de première invasion, constatés par des médecins, dont 3 vérifiés par notre examen microscopique. Pour les autres cas, renseignements impossibles à obtenir, les malades ayant été évacués sans recourir aux médecins.

Le très mauvais état sanitaire de ce chantier met en lumière le bon effet obtenu en 1905 par les mesures antilarvaires prises sur le même point. Nous n'avons pas proposé, en 1906, de con-

tinuer l'exécution de ces mesures, n'ayant pu obtenir, malgré nos demandes réitérées, d'être mis à même d'en contrôler les effets par la comparaison avec des chantiers témoins.

PARTICULIERS.

La Chiffa. — Le propriétaire d'une briqueterie tout à fait isolée, située aux bords mêmes de l'oued Chiffa, quininise lui-même ses ouvriers, tous anciens infectés ; le seul sujet indemne, nouveau-né de 1906, présente trois légers accès sans grosse rate ni rechute depuis 5 mois (paludisme douteux), tandis que les 2 enfants nés les années précédentes avaient contracté dès leur première année un paludisme grave. Le nouveau-né n'avait pas été quininisé lui-même. Aucun des Anophélines capturés dans l'habitation ne fut trouvé infecté.

Les index endémiques des indigènes quininisés, relevés avant et après la saison fiévreuse, montrent les rates :

Ferme Quirici. Traités.	D'hypertrop. sont redevenues normales.	Sont restées normales	HYPERTROPHIÉES Ont diminué.	HYPERTROPHIÉES Sont restées de même grosseur.	HYPERTROPHIÉES Ont augmenté.
0 à 5 ans........	»	1	2	»	»
5 à 10 ans.......	1	1	4	»	»
10 à 15 ans......	»	1	1	»	»
0 à 15 ans.......	1	3	7	»	»
Plus de 15 ans...	1	6	1	1	1
Total......	2	9	8	1	1

Village de la Chiffa. Témoins.					
0 à 5 ans.......	»	2	»	»	1
5 à 10 ans......	»	»	»	»	1
10 à 15 ans......	»	»	»	»	1
0 à 15 ans.......	»	2	»	»	3
Plus de 15 ans...	»	10	»	5	9
Total......	»	12	»	5	12

Tekteka. — Pour les conditions du paludisme, voir t. XX, p. 370. Mesures antilarvaires pratiquées aux frais du propriétaire de la ferme, irrégulières et insuffisantes, malgré les instructions données tous les 15 jours et la surveillance exercée avec la collaboration du Dr Danvin, de Coléa.

Anophélines nombreux du début à la fin de l'été. Au moins trois cas de première invasion.

*
* *

Un certain nombre de particuliers de la 1re section de la Mitidja ont grillagé leurs fermes depuis le début des campagnes antipaludiques.

Région témoin. — La région *témoin* de la première section de la Mitidja est représentée, en 1906, par la deuxième section de cette plaine, que limitent au nord le Sahel algérois et à l'est la voie ferrée du P.-L.-M.

La recherche des index endémiques dans cette partie de la plaine, au printemps et en automne, donne les chiffres suivants qui montrent une augmentation du nombre des grosses rates durant l'été. Le tableau des index endémiques de la première section, qui figure plus haut, montre au contraire une diminution de ce nombre.

	PRINTEMPS								AUTOMNE							
	De 0 à 5 ans.		De 5 à 10 ans.		De 10 à 15 ans.		Total des enfants de 0 à 15 ans.		De 0 à 5 ans.		De 5 à 10 ans.		De 10 à 15 ans.		Total des enfants de 0 à 15 ans.	
	Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :		Nombre de :	
	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates.	Sujets.	Grosses rates
Birtouta	42	2	46	7	16	0	104	9	24	6	48	6	33	4	105	16
Oued el Alleug.....	2	0	95	18	88	19	185	37	55	8	58	6	71	21	184	35
Coléa	12	3	26	16	4	3	42	22	5	1	5	3	9	2	19	6
Boufarik	163	22	202	34	104	26	469	82	189	42	153	48	132	54	474	144
Beni Mered........	2	0	3	1	1	0	6	1	1	0	1	0	6	1	8	2
Souma.............	9	0	9	0	4	0	22	0	11	1	8	0	10	0	29	1
Blida..............	40	3	48	5	27	2	115	10	26	1	45	3	33	6	104	10
Total général...............							943	161	Total général..........						923	214
Soit : 17,07 0/0 de rates.									Soit : 23,1 0/0 de rates.							

4° Autres localités fiévreuses.

En dehors de la zone sur laquelle nous avons porté notre principale attention, pour en faire le point de départ d'où l'antipaludisme gagnera chaque année des territoires voisins, nous nous sommes occupés de diverses localités fiévreuses éparses en Algérie et qui nous étaient signalées tantôt par l'administration, tantôt par des particuliers. Nous avons pu relever ainsi soit des observations épidémiologiques et prophylactiques, soit des observations épidémiologiques seules.

Parmi les agglomérations européennes, nous distinguons les anciens centres et les centres de nouvelle création. Ceux-ci sont très intéressants, car ils reçoivent des Français de la métropole, proie désignée pour le paludisme. Le devoir très net de l'administration est de protéger ces immigrants. Nous sommes heureux de rendre hommage ici à M. Leygues, ingénieur en chef du service spécial de la colonisation, pour toute l'aide qu'il ne cesse de nous donner dans nos recherches sur le mode de prophylaxie à adopter. Malgré le dévouement et le zèle de ses collaborateurs, parmi lesquels nous sommes heureux de citer M. Tailhandier, conducteur du service spécial à Constantine, il reste encore à créer une organisation. Les ouvriers antilarvaires improvisés à Mondovi, Gambetta, Brazza (voir plus loin) ne possèdent pas encore leur métier tout spécial, et MM. les Conducteurs, surchargés de besogne, ne peuvent pas revenir tous les 15 jours dans les mêmes localités.

Parmi les enquêtes que l'on nous a demandées, la plupart sont restées sans aucun effet (Rochambeau, voir t. XX, p. 386) [voir plus loin Foum-el-Gueiss]. La cause en est encore à cette absence d'une organisation antipaludique spéciale aux nouveaux centres, qui devrait s'appliquer automatiquement dans toute création nouvelle. Il ne sert de rien, en effet, d'enquêter avant le peuplement. Sauf les cas exceptionnels de villages récents où l'eau est très rare (voir t. XX, p. 387, Bourlier et Burdeau dans le Sersou), on peut dire que dans tout centre de colonisation sont réunis les trois facteurs d'une épidémie de paludisme : le *réservoir de virus*, ce seront les indigènes qui viendront se louer comme domestiques, ouvriers agricoles, khammès, petits commerçants ; les *gîtes à Anophélines*, en dehors des gîtes naturels,

les colons, surtout les immigrants inexpérimentés, créent des gîtes avec leurs irrigations ; enfin les *sujets sensibles*, qui sont les immigrants. Bien entendu, l'épidémie n'éclatera que lors de la réunion de ces trois facteurs, c'est-à-dire au moment du peuplement : ainsi s'expliquent ces épidémies qui ont désolé Rochambeau, Borély-la-Sapie, Voltaire, Liébert, au moment du peuplement. On a incriminé longtemps le remuement de terre : à Bourlier et à Burdeau (Sersou) on a défoncé en 1904 et en 1905 un sol vierge pour y faire une route, y construire deux villages ; il n'y eut pas de paludisme, car les gîtes manquaient : l'eau ne vient que de quelques puits où elle est toujours agitée, car ces puits sont continuellement en service.

La conclusion principale des pages qui suivent sera donc, en ce qui regarde les centres de colonisation, la nécessité de l'emploi et du dressage d'ouvriers antilarvaires.

I. — OBSERVATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET PROPHYLACTIQUES

1° *Communes et État.*

VILLAGE DE MONDOVI

Pour les conditions du paludisme, voir t. XX, p. 382. *Mesures antilarvaires* seules, insuffisamment exécutées. Larves présentes dans les gîtes tout l'été.

Les dépenses consenties (1.000 francs) ont donc été, en 1906, comme en 1905, à peu près inutiles. Plusieurs cas d'hémoglobinurie nous ont été signalés par M. le Dr Marbot, ainsi que plusieurs cas de première invasion (chez des nouveau-nés). Les tableaux suivants donnent les index endémiques avant et après la campagne.

Du printemps à l'automne, les rates sont :

	D'hypertrop. redevenues normales.	Restées normales.	HYPERTROPHIÉES		
			Diminuées	Restées de même grosseur.	Augmentées.
	2	10	3	14	23

VILLAGES INDIGÈNES DE BISKRA

Pour les conditions du paludisme, voir t. XIX, p. 133, et t. XX, p. 381. La *quininisation* seule a été essayée, dans une partie des villages de Bab-Darb et de Bab-Fath. Confiée à un chaouch indigène, elle a été déplorablement opérée. Les résultats sont nuls.

Les dépenses consenties (près de 1,000 francs) ont donc été inutiles.

Les tableaux suivants donnent les index endémiques avant et après la campagne. Il y a eu en été 1906, dans ces villages, 14 morts (sans diagnostic médical).

Du printemps à l'automne, les rates sont :

	D'hypertrop. redevenues normales.	Restées normales.	HYPERTROPHIÉES		
			Diminuées	Restées de même grosseur	Augmentées.
Bab-darb et Bab-fath (prétendus quininisés).	0	9	7	6	48
Ras-el-guéria (Témoins.)	0	12	1	7	25

2° *Fonctionnaires.*

DÉFENSE MÉCANIQUE DES LOGEMENTS DES INSTITUTEURS

Sur l'invitation de M. Boulogne, président de la Commission du paludisme, nous avons fourni les documents nécessaires à la mise en défense contre le paludisme des logements d'instituteurs ou d'institutrices, qui seront dorénavant édifiés. Ces documents ont été publiés dans une *Instruction spéciale concernant la construction, le mobilier et le matériel d'enseignement des écoles primaires élémentaires et des écoles maternelles de l'Algérie*, due à M. A. Ballu, inspecteur général du service d'architecture.

DÉFENSE MÉCANIQUE PERSONNELLE DES GARDES FORESTIERS

M. P. de Peyerimhoff, inspecteur-adjoint des forêts, procède à un essai de protection de gardes forestiers parcourant un pays

très fiévreux, en les munissant de moustiquaires de lit portatives. Trois gardes *neufs*, c'est-à-dire venant de France et n'ayant jamais eu les fièvres, d'après leurs dires, ont chacun leur moustiquaire (maison forestière du lac de Mouzaïa, les 2 maisons forestières de Tablat). L'état de santé de ces gardes est resté bon pendant l'été 1906 ; les résultats ne seront de quelque intérêt, bien entendu, qu'au bout de plusieurs années. L'efficacité de la moustiquaire de lit est ici moins en cause que l'exactitude des préposés à observer la consigne.

BARRAGISTE DU HAMIZ

Gîtes : Mares à mousses vertes de l'O. Hamiz en aval du barrage. Réservoir de virus très important : sur 13 indigènes adultes, 8 ont une grosse rate. Défense mécanique incomplète. Le barragiste et ses deux fils, anciens infectés, sont atteints de cachexie paludéenne *très grave*. Le barragiste, qui a dû passer plusieurs fois la nuit hors de son habitation, s'est sans doute réinfecté. Sa femme et sa fillette sont restées indemnes.

3° *Particuliers.*

DOMAINE DE L'HABRA

Pour l'exposé des conditions du paludisme, voir ces *Annales*, t. XX, p. 370. Les grillages ont été placés aux logements d'une quinzaine de familles d'ouvriers dépendant directement du domaine (Ferme-Blanche, le Paddock, Fornaka, la Touffe). Les mesures antilarvaires ont consisté en pétrolages des fossés des routes, des deux mares printanières près de Ferme-Blanche. Un marais situé à environ 1 kilomètre de cette agglomération n'a été l'objet d'aucune mesure, malgré les indications données, de même qu'un autre marais plus proche, situé en dehors du domaine. La quininisation de tous les habitants, pour laquelle des instructions et le matériel ont été envoyés par l'Administration centrale du Crédit Foncier, n'a pas été régulière, ni bien faite. La mauvaise application de l'antipaludisme, tant de la défense mécanique que des mesures antilarvaires et de la quininisation, par les personnes chargées de ce soin, a amené les mauvais résultats indiqués par les index endémiques suivants. Nous connaissons deux cas de première invasion dont l'un a

nécessité le séjour du malade à l'hôpital de Saïda et l'a laissé profondément anémié.

Les index endémiques relevés au printemps et en automne nous montrent des rates :

Ferme Blanche. Traités, mais mal.	D'hypertoph. redevenues normales.	Restées normales.	HYPERTROPHIÉES		
			Diminuées.	Restées de même grosseur.	Augmentées
0 à 5 ans.......	»	21	»	»	6
5 à 10 ans.......	3	6	1	2	7
10 à 15 ans......	»	4	»	»	»
0 à 15 ans.......	3	31	1	2	13
Plus de 15 ans..	»	1	»	»	»
Total.....	3	32	1	2	13
Planète. Témoins.					
0 à 5 ans.......	»	»	»	»	1
5 à 10 ans......	»	2	»	2	6
10 à 15 ans.....	»	1	»	»	2
0 à 15 ans......	»	3	»	2	9
Plus de 15 ans..	»	»	»	»	»
Total.....	»	3	»	2	9

II. — OBSERVATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES.

Département d'Oran.

TÉNIRA

	RÉSERVOIR DE VIRUS.	GITES A ANOPHÉLINES.
Voir tome XX, mai 1906, page 24.	Le paludisme, très violent en 1904, a été très faible en 1905.	De grands travaux de desséchement ont assaini, en partie, la région, mais des gîtes très étendus, au moins printaniers, existaient encore au printemps 1906. La partie de la plaine, signalée en juin 1905 comme insuffisamment drainée, l'est encore.

Département d'Alger.

LIÉBERT

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Contreforts sud de l'Ouarsenis. Centre peuplé en 1906, ravagé aussitôt par une épidémie de paludisme : le Dr Aucaigne, médecin de colonisation, a eu à soigner pour paludisme tous les habitants sans exception.	Chez 10 enfants indigènes, 7 grosses rates. Chez 17 enfants européens, 8 grosses rates.	Gîtes restreints : Petites dépressions autour du village, recevant l'eau d'écoulement du lavoir et de l'abreuvoir. En contre-bas du lavoir, marais résultant du mauvais entretien des fossés destinés à assécher le terrain.

BOURLIER — BURDEAU

Pour les conditions du paludisme, voir ces *Annales*, t. XX, p. 387 (*pas de gîtes*).

Le Dr Aucaigne, médecin de colonisation, veut bien nous écrire : « L'état sanitaire de ces 2 villages est excellent et l'a été pendant tout l'été. Je n'ai rencontré, pour ma part, *aucun cas de fièvres paludéennes de 1re invasion dans ces localités*, les seuls cas de paludisme réellement observés par moi l'ont été chez d'anciens paludéens, comme le garde champêtre de Burdeau et sa famille. J'ai observé également des fièvres paludéennes chez des colons fréquentant les marchés, et couchant ainsi dans des localités infectées.«

M. de Saulieu, qui dirige une exploitation agricole à Bourlier, a bien voulu nous faire les mêmes déclarations.

L'*immunité* de ces deux villages, qui *ne possèdent pas*, pour le moment, des gîtes à Anophélines, est intéressante à constater, à l'appui de la doctrine anophélienne. Le village de Liébert (voir plus haut), situé dans la même région, mais qui *possède des gîtes*, a été très éprouvé par le paludisme, et peut leur servir de *témoin*.

HARDY (AÏN-EL-BEÏDA)

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre projeté, pour lequel on hésite entre 2 emplacements : 1er Emplacement, dangereux par l'étendue des gîtes voisins;	Chez 17 indigènes examinés, 8 grosses rates.	1° Gîtes considérables : Oueds Nahr-Ouacel, Tazmaïa, eaux d'écoulement de l'Aïn-el-Beïda.
2e Emplacement, moins dangereux, à 45 mètres plus haut en altitude.		2° Aïn-el-Beïda, à 1,000 mètres environ, et dépressions voisines, si elles sont remplies d'eau par des irrigations mal faites.

VICTOR-HUGO.

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre en création sur le plateau du Sersou. Si l'emplacement avait été choisi à 1,500 mètres seulement plus loin de la dépression de Zilène, il aurait présenté de bien meilleures conditions de salubrité.	6 grosses rates chez 7 enfants indigènes.	A 1,200 mètres, dépression dite de Zilène, contenant encore des larves d'Anophélines, le 15 novembre. Les eaux d'écoulement du lavoir et de l'abreuvoir créeront en 1907 de nouveaux gîtes, si des mesures ne sont pas prises.

KEDDARA

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Lot de ferme concédé près du village nouvellement créé à Keddara (sur les contreforts de l'Atlas, flanc mitidjéen). Est à une altitude un peu supérieure à celle d'un village indigène voisin.	Index de 2 grosses rates sur 20 enfants examinés.	Près de l'emplacement de la future habitation et à 80 mètres plus bas, coule un oued. Quelques sources et quelques trous d'eau encore cachés dans la brousse.

Département de Constantine.

EL KSEUR.

	RÉSERVOIR DE VIRUS.	GITES A ANOPHÉLINES.
Centre anciennement peuplé au pied des montagnes de Kabylie.	Pourcentage des grosses rates : 30,9 % (sur 84 enfants indigènes examinés).	Par ordre d'importance: 1° *Marais* formé par l'eau d'écoulement d'un abreuvoir ; 2° Mares du lit caillouteux de l'oued El-Kseur, à environ 400 mètres ; 3° Certains fossés d'écoulement des eaux des fontaines du village ; 4° Un gîte possible et transitoire est formé par les mares du lit de l'oued Méliana, voisin.

AÏN-MOKRA

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre anciennement peuplé, situé près d'un grand lac jamais à sec; la région est réputée, à juste titre, très malsaine.	Indigènes infectés (très nombreux), Européens anciens infectés.	Le gîte le plus important est le lac Fetzara, dont les bords, au printemps (moment de la plus grande pullulation des larves), ne sont pas éloignés du village de plus de 1500 mètres. Une carrière abandonnée, dans le village même, laisse des trous remplis d'eau au printemps. gîtes printaniers accessoires, mais très dangereux. Dans le village même, les abords des sources peuvent devenir des gîtes à Anophélines. Les grands trous d'eau. à bords taillés à pic, sans végétation, de la mine du Mokta, ne paraissent pas dangereux.

AÏN-ABID

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre anciennement peuplé, jouit d'une réputation de salubrité exceptionnelle, au milieu d'une région fiévreuse. Altitude élevée.	Les indigènes du village seuls souffrent du paludisme. Pourcentage des grosses rates 12°, 5 °/₀ (sur 48 enfants examinés). Hématozoaires dans le sang de l'un d'eux.	Petits gîtes : fossés d'écoulement d'abreuvoirs, puits abandonné. Pas d'oued aux environs, fait qui explique la situation relativement bonne de cette localité, par rapport aux localités voisines.

AZEL-SAKRANIA

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Lots projetés de fermes au voisinage d'une localité réputée salubre (Aïn-Abid). Altitude élevée.	8 grosses rates chez 16 indigènes habitant sur l'emplacement même des futurs lots.	Petit oued à courant très faible. Abords de sources et quelques suintements. Les Anophélines adultes sont très nombreux dans les habitations existantes. Les mesures à prendre contre les gîtes seraient faciles et indispensables, car un paludisme *violent* décimerait certainement les premiers habitants. Le service spécial de la colonisation a abandonné le projet de création de fermes à Azel-Sakrania, à la suite de notre rapport à ce sujet.

AÏN-GOUTHNIA.

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre projeté de colonisation dans les vallons des Matmata.	Les enfants indigènes habitant dans le voisinage immédiat ont fourni un index de 16, 3 °/₀ (sur 83 examinés).	L'oued Cheurfa qui coule au pied même du futur village, les sources voisines et leurs abords, les suintements des petits ravins qui encadrent l'emplacement du futur village sont des « gîtes » faciles à régulariser ou à détruire.

GAMBETTA (EL-GUETTAR)

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre en création dans le massif montagneux au sud de Souk-Ahras. Emplacement d'une ancienne smala de spahis.	Sur 14 enfants indigènes habitant les abords du futur village, 4 grosses rates. Sur 50 ouvriers travaillant en août sur l'emplacement du futur village, 6 grosses rates.	1° Les deux sources et leurs abords en contre-bas de l'emplacement de Gambetta ; 2° Oued provenant de ces sources et formant un vrai marécage en contre-bas ; 3° Un autre gîte bien moins important est constitué par un petit oued, à 900 mètres.

LAMY (BOU-HADJAR)

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Centre déjà peuplé, près de la frontière tunisienne, au fond d'une vallée encaissée.	Enfants indigènes : 43,2 °/₀ de grosses rates (sur 37 examinés).	Ce sont : l'oued Bou-Guerma, à mares estivales, un autre oued, à mares printanières, les abords de l'abreuvoir et une source.

FOUM-EL-GUEISS.

	RÉSERVOIR DE VIRUS	GITES A ANOPHÉLINES
Au débouché dans la plaine d'une vallée du flanc nord de l'Aurès.	Peu d'indigènes actuellement aux environs. Sur 10 enfants, 2 grosses rates.	A quelques dizaines de mètres du village projeté, séguias d'irrigation et Oued Gueiss.

Propagande antipaludique.

Ont été publiées :

10,000 *recommandations* pour se défendre contre le paludisme (4 pages de texte, 4 pages de figures).

20,000 petites affiches résumant en quelques lignes des conseils contre le paludisme, en français et en arabe (placées dans tous les wagons de chemins de fer d'Algérie, dans les gares, les mairies, les sièges de commune mixte, les justices de paix, les bureaux de poste).

Notices en arabe sur le même sujet, distribuées aux fonctionnaires et notables indigènes.

5,000 conférences distribuées aux instituteurs, aux officiers chargés des conférences dans les régiments, aux maires, aux présidents des différentes sociétés agricoles, etc. (Des clichés pouvant servir à illustrer cette conférence sont tenus à la disposition des personnes qui en font la demande.)

2,000 planches murales : contre le paludisme. en couleurs. Elles sont affichées dans toutes les écoles algériennes, dans les mairies, dans certaines gares.

10,000 cartes postales illustrées vulgarisant la connaissance du rôle des Moustiques et des nouvelles méthodes prophylactiques.

De l'anaphylaxie et de l'anti-anaphylaxie
VIS-A-VIS DU SÉRUM DE CHEVAL

PAR A. BESREDKA ET EDNA STEINHARDT

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

I

DE L'ANAPHYLAXIE

Le cobaye devient extrêmement sensible à l'injection de sérum normal de cheval, lorsque, 12 jours auparavant, il a reçu sous la peau un mélange de toxine et d'antitoxine diphtérique[1].

Cette hypersensibilité du cobaye, qui est à rapprocher de l'anaphylaxie, bien connue surtout depuis les travaux de *Richet* et d'*Arthus*, fut récemment étudiée avec beaucoup de soin par *Rosenau* et *Anderson*[2] à Washington, et indépendamment d'eux, par *Otto*[3] à Francfort.

Comme ces auteurs, nous observâmes aussi que les cobayes qui ont servi au dosage de sérum antidiphtérique présentent assez souvent des symptômes graves, lorsque, 12-15 jours après, on leur injecte dans le péritoine 5 c. c. de sérum normal de cheval.

Ces injections intrapéritonéales, qui passent tout à fait inaperçues chez le cobaye normal, sont suivies, dans certains cas, d'issue mortelle chez les cobayes « sensibilisés »[4].

1. Ce phénomène, connu dans les laboratoires américains, a été appelé par *Otto* (v. Leuthold-Gedenkschrift. I. vol. 1906) « phénomène de Theobald Smith ».

2. A study of the cause of sudden death following the injection of horse serum. Hygienic Laboratory. — *Bulletin n°* 29. Avril 1906. Washington.

3. *Loc. cit.* Voir l'analyse de ces deux mémoires in *Bulletin de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 813, p. 626.

4. Nous désignerons dorénavant ainsi les cobayes qui avaient servi antérieurement au dosage de sérum antidiphtérique, et avaient donc reçu à un moment donné un mélange de toxine et de sérum antidiphtérique (1/200-1/300 c. c. de sérum).

***

Dans nos expériences, nous n'avons jamais eu de mortalité bien élevée. Sans prétendre à une grande exactitude, nous croyons ne pas nous tromper beaucoup en disant que chez nos cobayes sensibilisés, le sérum (5 c. c.) ne déterminait la mort que dans 25 0/0 de cas environ. Le sérum rendait les cobayes sensibilisés plus ou moins malades dans presque autant de cas (25 0/0); enfin, dans 50 0/0 de cas, les cobayes, bien que sensibilisés depuis plus de 12 jours, ne réagissaient d'aucune façon à l'injection de sérum dans le péritoine.

Dans les expériences d'*Otto*, la proportion de cobayes réagissant au sérum était notablement supérieure : ainsi, il a eu une mortalité dans 50 0/0 de cas; chez les autres 50 0/0, l'injection de sérum déterminait toujours des symptômes plus ou moins graves, mais sans issue mortelle.

Quant aux expériences de *Rosenau* et *Anderson*, elles furent encore beaucoup plus meurtrières : sauf quelques rares exceptions où l'injection du sérum était suivie de troubles très graves, mais non mortels, la généralité des cobayes succombait invariablement en un temps très court.

La différence que nous venons d'indiquer dans le taux de la mortalité doit résider soit dans la résistance inégale des cobayes, soit dans la toxicité inégale des sérums. Quoi qu'il en soit, il est un fait bien certain que les troubles d'anaphylaxie sont plus bénins à Paris qu'à Francfort et surtout beaucoup plus bénins qu'à Washington.

Mais si peu élevée que soit la mortalité des cobayes parisiens, on ne peut pas s'empêcher de considérer ce phénomène comme extrêmement troublant.

Rosenau et *Anderson*, ainsi que *Otto*, ont bien cherché à en pénétrer le mécanisme, sans grand succès d'ailleurs. Ils sont parvenus cependant à déblayer le terrain, en précisant un certain nombre de détails se rattachant au déterminisme du phénomène en question.

Voici, en résumé, ce qui est établi aujourd'hui, grâce aux recherches de ces savants.

***

Il est établi que l'injection préalable d'une faible dose (1/250-1/1.000.000 c. c.) de sérum normal de cheval, seul, suffit

pour créer chez le cobaye un état de « sensibilisation », mais que l'addition de toxine diphtérique à du sérum, sans être indispensable, rend l'anaphylaxie plus saisissante; que celle-ci ne s'établit que dans les cas où il s'est écoulé au moins 10-12 jours entre l'injection « sensibilisante » (toxine + antitoxine diphtérique) et l'injection de sérum de cheval (5 c. c.) dans le péritoine.

Il a été enfin établi que, lorsque l'intervalle entre ces deux injections est plus court et que le sérum de cheval est injecté dans le péritoine avant l'expiration du délai de 12 jours, l'animal ne réagit que très peu ou pas du tout, et, chose curieuse, il ne va plus réagir du tout à une autre injection de sérum, celle-ci fût-elle même faite au delà de la période de 12 jours, en d'autres termes, le cobaye devient vacciné contre l'anaphylaxie.

Les expériences de *Rosenau* et *Anderson* ont, de plus, montré que cette immunité est strictement active et que le sérum des cobayes vaccinés, pas plus que leurs organes, ne possède aucun pouvoir spécifique.

Avant de passer à l'exposé de nos propres recherches, hâtons-nous de remarquer que nous n'avons pas été plus heureux que nos prédécesseurs dans nos tentatives d'élucider la cause intime de l'hypersensibilité des cobayes vis-à-vis du sérum de cheval. Nous avons eu néanmoins l'occasion d'observer, au cours de nos expériences, des faits très curieux, qui méritent d'autant plus d'être relevés qu'ils sortent tout à fait du cadre des phénomènes jusqu'ici connus.

* * *

Au moment de nous engager dans l'étude de l'anaphylaxie, nous fîmes une hypothèse qui nous servit de fil conducteur dans toutes nos recherches. Nous nous sommes dit ceci : le cobaye sensibilisé qui paraît jouir d'une bonne santé, peut-être en réalité présente-t-il, malgré sa belle apparence, quelque lésion latente du cerveau ; une deuxième injection faite dans le péritoine 12 jours plus tard, vient, peut-être, réveiller cette lésion nerveuse, ce qui a pour résultat de déclancher des troubles graves et même la mort.

En partant de cette hypothèse, nous décidâmes de porter le sérum, lors de la deuxième injection, non dans le péritoine, mais directement dans le cerveau; en venant frapper ainsi directe-

ment la cellule sensible, nous comptions provoquer des symptômes anaphylactiques avec des doses beaucoup plus faibles de sérum, et surtout avec une constance plus grande que l'on n'en observe lors des injections intrapéritonéales.

C'est ce qui arriva, en effet.

* * *

Lorsqu'on injecte sous la dure-mère d'un cobaye sensibilisé 1/4 ou même 1/10 c. c. de sérum de cheval, on voit au bout de quelques minutes l'animal présenter les mêmes symptômes qu'il aurait eus après l'injection de 5 c. c. de sérum dans le péritoine. Il va sans dire que l'injection intracérébrale doit être faite, tout comme l'injection intrapéritonéale, au plus tôt 10-12 jours après la sensibilisation.

Mais, et c'est là un fait d'une grande importance, tandis que, à la suite des injections intrapéritonéales, la mort ne survient que dans 25 0/0 des cas environ, chez les cobayes injectés dans le cerveau, la mort est la règle ; de temps en temps on rencontre des cobayes qui échappent à la mort, mais jamais sans avoir présenté des symptômes de gravité exceptionnelle, tels que convulsions et collapsus faisant redouter la mort à brève échéance.

Ainsi, sur 30 cobayes ayant été sensibilisés à différentes époques, puis éprouvés dans le cerveau avec 1/4 — 1/10 c. c. de sérum normal de cheval, nous n'en avons eu qu'un seul qui n'a pas réagi à l'injection intracérébrale (ce cas remonte au début de nos expériences, quand nous n'étions pas encore bien familiarisés avec la technique). 5 cobayes ont présenté des symptômes d'anaphylaxie des plus graves durant 15 minutes, à tel point que nous les considérions comme perdus; ils se rétablirent ensuite. Enfin, 24 cobayes moururent dans l'espace de 1 à 7 minutes après l'injection.

Trois cobayes injectés avec 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau, 8 jours après la sensibilisation, c'est-à-dire avant le délai nécessaire, ne présentèrent que des troubles de peu d'importance.

COBAYES SENSIBILISÉS D'ABORD, PUIS ÉPROUVÉS AVEC 1/4 C. C. DE SÉRUM DE CHEVAL DANS LE CERVEAU :

Intervalle entre les deux injections.	Nombre de cobayes.	Résultats.
8 jours........	3..................	Légers symptômes.
10 —	2..................	Mort en 2-3 minutes.
11 —	1..................	Mort en 7 minutes.
13 —	4..................	Mort en 3-7 minutes.
15 —	1..................	Mort en 3 minutes
16 —	9..................	7 morts : 2 gravement malades.
18 —	1 (1/20 c. c.)......	Collapsus ; très malade 30 minutes.
20 —	1..................	» » 15 minutes.
20 —	1..................	Pas de symptômes (?)
22 —	5..................	4 morts ; 1 gravement malade.
27 —	1..................	Mort en 3 minutes.
31 —	4..................	Mort en 2-5 minutes.

Les cobayes neufs ou les cobayes ayant reçu de la toxine diphtérique seule [1], résistent très bien à l'injection de 1/4 c. c. de sérum de cheval dans le cerveau ; dans aucun de nombreux cas, il ne nous fut donné d'observer des troubles tant soit peu appréciables.

Il en est de même des cobayes sensibilisés auxquels on injecte dans le cerveau 1/4 c. c. de liquide indifférent, tel que bouillon de bœuf ou eau physiologique.

Les phénomènes d'anaphylaxie ne s'observent pas lorsque le délai de 12 jours n'est pas expiré entre l'injection sensibilisante et l'injection intracérébrale.

Ils ne s'observent pas non plus, même après le délai nécessaire, lorsque la sensibilisation a été obtenue non avec un mélange de toxine et d'antitoxine diphtérique, mais avec la toxine et l'antitoxine tétanique. Ainsi, sur 9 cobayes ayant servi à différentes époques au dosage de sérum antitétanique, aucun ne fut malade, lorsque 12-15 jours après on leur injecta 1/4 c. c. de sérum de cheval dans le cerveau. Ce résultat négatif est évidemment dû moins à la nature de la toxine mélangée avec du sérum, qu'à la très faible quantité de sérum (1/10,000-1/100.000 c. c.) dont on se sert dans ces dosages.

1. Nous avons éprouvé six cobayes 13 jours après leur avoir injecté sous la peau 1/4-1/8 c. c. de toxine chauffée 2 heures à 65°.

II

DE L'ANTI-ANAPHYLAXIE

L'épreuve des cobayes sensibilisés par le cerveau offre non seulement un intérêt théorique, en montrant que, dans l'anaphylaxie sérique, on a réellement affaire à une intoxication d'ordre nerveux, mais elle présente encore un grand avantage pratique; elle permet notamment d'approfondir le problème au point de vue de l'immunité. Vu la régularité avec laquelle les cobayes sensibilisés succombent à l'épreuve cérébrale, chaque fois que, à la suite d'un traitement préalable, on n'observe ni mort, ni même collapsus, on peut être sûr que l'on a affaire à un cas d'immunité artificielle.

Cette certitude, on est loin de l'avoir en faisant l'épreuve par la voie péritonéale, vu la grande proportion de cobayes qui se montrent, au moins à Paris, déjà naturellement réfractaires à la deuxième injection de sérum de cheval.



Au commencement de cette note, nous avons fait remarquer que Rosenau et Anderson réussirent à vacciner les cobayes contre les accidents d'anaphylaxie en leur injectant dans le péritoine des doses massives et répétées de sérum.

Cette immunité, vis-à-vis des effets anaphylactiques provoqués par une injection intrapéritonéale de sérum, est un phénomène auquel on pouvait s'attendre par analogie avec d'autres faits de même ordre; mais, où ce phénomène nous a paru sous un jour tout à fait inattendu, c'est lorsque nous constatâmes le fait surprenant que voici : les cobayes, sensibilisés d'abord (toxine + antitoxine diphtérique), puis immunisés avec du sérum de cheval *par la voie péritonéale*, se montrèrent réfractaires à *l'injection intracérébrale* (1/4 c. c.) de sérum de cheval.

Cette immunité cérébrale a été observée d'abord par nous chez des cobayes qui avaient reçu à *plusieurs* reprises du sérum de cheval dans le péritoine.

En voici quelques exemples :

1. Un cobaye sensibilisé reçoit :

10 jours après la sensibilisation	5 c. c.	de sérum	dans	le péritoine.
15 — — —	5 c. c.	»	»	»
28 — — —	5 c. c.	»	»	»

36 jours après la sensibilisation 5 c. c. de sérum dans le péritoine.
39 — — — 5 c. c. » » »
45 — — — on lui injecte 1/4 c. c. de sérum de cheval dans le cerveau. Il ne manifeste aucune réaction, alors que le témoin meurt en deux minutes.

2. Un cobaye sensibilisé ayant reçu dans des conditions analogues quatre fois du sérum dans le péritoine, est éprouvé 16 jours après la dernière injection avec 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau. Après quelques minutes de malaise, il est complètement rétabli.

3. Un cobaye sensibilisé a reçu à trois reprises, à 8 jours d'intervalle, en tout 15 c. c. de sérum de cheval dans le péritoine. Éprouvé deux jours après la dernière injection, il ne présenta aucun symptôme.

Plus tard, nous essayâmes de vacciner les cobayes sensibilisés *avec une seule* injection de 5 c. c. de sérum dans le péritoine. Citons au hasard plusieurs de ces expériences.

1. 17 jours après avoir servi à l'essai de sérum antidiphtérique, 1 cobaye reçoit 5 c. c. de sérum de cheval (anti-typhique) dans le péritoine; il présente à la suite de cette injection de légers symptômes. 8 *jours plus tard*, soit 25 jours après l'injection sensibilisante, on lui injecte dans le cerveau 1/4 c. c. de sérum de cheval. Pas de symptômes.

2. Deux cobayes reçoivent, 8 jours après avoir servi à l'essai de sérum antidiphtérique, dans le péritoine, chacun 5 c. c. de sérum de cheval ; aucun d'eux n'est malade. Un de ces cobayes est injecté ensuite avec 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau 10 *jours plus tard* et l'autre 14 *jours plus tard*, c'est-à-dire au 18e et au 22e jour après la sensibilisation, en plein état d'anaphylaxie. Aussitôt après l'injection, les cobayes sont visiblement incommodés, mais ils se rétablissent très vite.

Le témoin qui fut sensibilisé le même jour, mais ne fut pas vacciné dans la suite, mourut en 5 minutes.

*
* *

Ayant ainsi constaté, comme il ressort de ces quelques exemples, que l'immunité contre les accidents d'anaphylaxie peut être obtenue avec une seule injection, et cela après 14, 10 et 8 jours après l'injection de 5 c. c. de sérum dans le péritoine, nous nous sommes demandés s'il ne serait pas possible de rapprocher davantage l'intervalle entre l'injection immunisante et l'épreuve par le cerveau.

1. 4 cobayes ayant servi au dosage de sérum antidiphtérique, ont reçu chacun, 10 jours après, 5 c. c. de sérum de cheval dans le péritoine; 2 *jours plus tard*, nous leur injectâmes à tous 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau; aucun d'eux ne présenta de symptômes tant soit peu appréciables.

2. 1 cobaye, sensibilisé depuis 11 jours, reçoit dans le péritoine 5 c. c. de

sérum de cheval : *le lendemain* déjà il résiste à l'injection intracérébrale de 1/4 c. c. de sérum, et cela sans présenter d'autres troubles qu'un peu de malaise dû à l'opération.

3. 1 cobaye sensibilisé il y a 10 jours, reçoit 5 c. c. de sérum dans le péritoine; *le lendemain* on lui injecte dans le cerveau 1/20 c. c. de sérum; il ne présente aucun symptôme, alors que son témoin, sensibilisé à la même époque, mais non immunisé, présente du collapsus, puis se rétablit.

4. 1 cobaye sensibilisé depuis 17 jours, reçoit dans le péritoine 5 c. c. de sérum. Il est malade, puis se rétablit; *le lendemain* on lui injecte, en même temps qu'aux deux précédents, 1/20 c. c. de sérum dans le cerveau ; il ne présente pas le moindre symptôme.

Il résulte donc nettement de ces expériences que l'immunité conférée au cerveau par l'injection préalable du sérum dans le péritoine, s'établit très vite : elle est déjà complète le lendemain.

*
* *

Enhardis par ces résultats, nous avons cherché à immuniser, puis à inoculer l'animal *le même jour*.

1. 3 cobayes ayant servi au dosage de sérum antidiphtérique ont reçu 23 jours après, c'est-à-dire en plein état d'hypersensibilité, chacun 4 c. c. de sérum de cheval (anti-streptococcique) dans le péritoine. Pendant une demi-heure ils étaient visiblement malades, sans avoir cependant présenté de symptômes graves d'anaphylaxie.

2 *heures plus tard*, on leur injecta à chacun 1/4 c. c. de même sérum dans le cerveau; on en fit autant à deux témoins, sensibilisés à la même époque; ces deux témoins moururent en 2 et en 7 minutes. Quant aux autres, ils ont eu, aussitôt après l'injection, un moment de stupeur, mais en sont bien vite revenus, sans présenter aucun trouble tant soit peu notable. Le lendemain, deux de ces cobayes ont reçu une nouvelle injection de 1/4 c. c. dans le cerveau, à la suite de quoi ils ne présentèrent d'autres symptômes qu'un peu d'incoordination dans les mouvements, qui a du reste disparu au bout de quelques minutes.

2. 1 cobaye ayant servi au dosage de sérum antidiphtérique reçut, 12 jours après, dans le péritoine, 5 c. c. de sérum de cheval (antityphique).

1 *heure et demie plus tard*, nous lui injectâmes 1/4 c. c. de sérum de cheval dans le cerveau; à notre étonnement, il ne fut pas malade du tout.

*
* *

Pour nous résumer : dans 4 cas, les cobayes, en puissance d'anaphylaxie, sont devenus réfractaires à l'injection intra-cérébrale, après avoir reçu du sérum dans le péritoine 2 jours auparavant; dans 3 cas, il a suffi d'injecter à des cobayes sensibilisés du sérum dans le péritoine pour qu'ils fussent réfractaires déjà le lendemain; enfin, dans 3 cas, à la suite d'une injection de

4-5 c. c. de sérum dans le péritoine, les cobayes supportèrent 2 heures plus tard, et dans un cas — déjà 1 heure 1/2 plus tard, la dose de 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau, mortelle en quelques minutes pour le cobaye simplement sensibilisé.

Il s'ensuit donc que *l'immunité cérébrale s'établit presque immédiatement après l'injection intrapéritonéale.* C'est là un fait dont on ne connaît guère d'exemple dans la science.

Nous connaissons un poison qui présente quelques analogies, assez éloignées, il est vrai, avec celui contenu dans le sérum de cheval : nous avons en vue la toxine tétanique qui tue le cobaye en injection sous-cutanée, et aussi en injection intra-cérébrale,

Or, le cobaye a beau être immunisé aussi solidement que possible contre la toxine tétanique, il suffit de lui injecter sous la dure-mère une dose simplement mortelle de toxine, pour le voir mourir dans le même délai qu'un cobaye neuf. En d'autres termes, le cerveau d'un cobaye immunisé contre le tétanos ne bénéficie aucunement de l'immunité que possède l'organisme entier de l'animal. C'est le contraire qui paraît avoir lieu avec le sérum de cheval; car, dans ce cas, du fait de l'injection intrapéritonéale, le cerveau devient réfractaire à l'effet anaphylactique du sérum. Ce qui n'est pas moins surprenant, c'est la rapidité avec laquelle cette anti-anaphylaxie s'installe chez le cobaye préalablement anaphylactisé.

*
* *

Du reste, lorsqu'on pousse l'étude de ce phénomène plus à fond, on ne tarde pas à s'apercevoir que le péritoine n'intervient pas d'une façon active dans la production de l'anti-anaphylaxie. *Nous avons pu*, en effet, *conférer l'immunité* à des cobayes sensibilisés, en dehors de la voie péritonéale, *en s'adressant directement à la voie cérébrale.*

En voici quelques exemples :

1. 1 cobaye, sensibilisé depuis 8 jours, reçoit dans le cerveau 1/4 c. c. de sérum de cheval (antityphique); 14 jours après, c'est-à-dire au moment où il aurait dû être en pleine anaphylaxie, il reçoit une nouvelle injection de 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau; il est malade, il est vrai, mais se rétablit.

2. 3 cobayes sont injectés dans le cerveau (1/4 c. c. de sérum), 10 jours après avoir été sensibilisés; un de ces cobayes (n° 1) est malade à la suite de cette injection; les deux autres ne présentent aucun symptôme morbide.

2 jours plus tard, on leur injecte à tous 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau. Cette injection n'est suivie d'aucun trouble sérieux; 2 jours après un (le... nº 1) de ces cobayes est mort.

3. 3 cobayes, sensibilisés depuis 7 jours, reçoivent : 2 — 1/10 c. c. dans le cerveau, le 3e — 1/4 c. c. Un mois plus tard, tous les 3 résistèrent à une injection intracérébrale de 1/4 c. c. de sérum, et cela sans avoir été malades.

Nous devons toutefois remarquer que la vaccination est un peu plus sûre lorsqu'on s'adresse à la voie péritonéale; cela est dû probablement à ce que le cobaye ne supporte pas impunément le traumatisme occasionné par des injections répétées dans le cerveau.

* * *

Le cerveau des cobayes, rendus réfractaires est-il capable de conférer l'immunité passive à un cobaye sensibilisé? En d'autres termes, la substance cérébrale, retirée chez un cobaye immunisé, est-elle capable, mélangée avec du sérum de cheval, d'enlever à ce dernier son pouvoir toxique pour un cobaye en puissance d'anaphylaxie?

Pour le savoir, nous avons broyé le cerveau des cobayes devenus réfractaires, avec du sérum normal de cheval; puis, après un contact de 1 heure et après une centrifugation, le liquide surnageant était injecté à la dose de 1/4 c. c. sous la dure-mère de cobayes sensibilisés. Deux cobayes ont survécu à cette injection, mais chez tous les autres — et nous en avons fait un grand nombre — le sérum surnageant se montra aussi meurtrier après le contact avec du cerveau, qu'avant : le cerveau ne fut donc pas capable de neutraliser *in vitro* la substance toxique du sérum de cheval.

Dans une autre série d'expériences, l'émulsion cérébrale, provenant d'un cobaye réfractaire fut injectée à titre préventif sous la peau de cobayes sensibilisés; ces cobayes n'en réagirent pas moins le lendemain à l'injection intra-cérébrale de 1/4 c. c. de sérum, tout comme des cobayes sensibilisés témoins.

Ce que nous venons de dire au sujet du cerveau s'applique également à l'émulsion de la rate, du foie et au sérum des cobayes réfractaires : aucune de ces substances ne manifeste *in vitro* la moindre propriété spécifique.

L'état anti-anaphylactique des cobayes préparés est donc un phénomène purement local. Dans un prochain mémoire, nous

essayerons de pénétrer davantage le mécanisme de cette immunité si particulière.

*
* *

Conclusions

Les cobayes, ayant servi au dosage de sérum antidiphtérique, deviennent extrêmement sensibles à l'injection intra-cérébrale de sérum normal de cheval, si cette dernière est faite au moins 10-12 jours après la première.

Cette hypersensibilité, ou anaphylaxie, se traduit, en général, par des phénomènes très graves se terminant le plus souvent par la mort.

Une injection de sérum de cheval dans le péritoine ou dans le cerveau, faite avant l'expiration du délai de 12 jours, est inoffensive; elle est, de plus, vaccinante : le cobaye, quoique sensibilisé, non seulement ne succombe plus à l'injection intra-cérébrale de sérum, mais ne présente même aucun trouble sérieux.

Cet état d'anti-anaphylaxie peut être obtenu par une seule injection de sérum dans le péritoine ; il peut être aussi obtenu par une seule injection de sérum dans le cerveau.

L'apparition de cet état anti-anaphylactique suit de très près l'injection intrapéritonéale de sérum.

Le cerveau, la rate, le foie et le sérum de cobayes rendus anti-anaphylactiques, ne possèdent aucune propriété spécifique.

10 janvier 1907.

Contribution à l'étude du "phénomène d'Arthus"

Par Maurice NICOLLE

Dans un travail paru, ici même, l'an dernier (*Etudes sur la morve expérimentale du cobaye*), nous écrivions les lignes suivantes, à propos de la question, si complexe, de l'hypersensibilité :

Lorsque Arthus eut fait connaître ses remarquables expériences sur l'anaphylaxie des lapins traités par le sérum équin, nous avions déjà nos idées actuelles touchant la cause réelle de l'hypers. ; aussi avons-nous répété immédiatement ces expériences, avec l'espoir de trouver ici la substance présidant à l'hypersensibilité, vainement cherchée ailleurs. Nos études ont été rendues très difficiles, par suite d'épidémies incessantes de « maladie du nez » chez les lapins anaphylactisés. Nous les avons recommencées à plusieurs reprises et nous avons fini par les abandonner « provisoirement », en attendant de meilleures conditions de travail. Pendant ce « provisoire » (de 1903 à 1906), l'idée d'un anticorps causal est venue à l'esprit de v. Pirquet et Schick, mais ces auteurs n'ont pu asseoir leur hypothèse sur des faits matériels.

Or, s'il nous a fallu arrêter nos expériences avant d'avoir poussé bien loin l'étude des lois qui régissent le *phénomène d'Arthus*, certaines de ces expériences n'en ont pas moins démontré très nettement que *l'anaphylaxie constitue une propriété transmissible par le sérum, c'est-à-dire liée à l'existence d'une substance spécifique.*

Puis, nous donnions, à titre d'exemple, le résumé de deux observations caractéristiques d'hypersensibilité « passive ».

Nous nous proposons, aujourd'hui, de rapporter, avec quelques détails, les recherches que nous avons entreprises il y a quatre ans. Il eût été intéressant de les poursuivre ; on vient de voir pourquoi nous ne l'avons point fait.

LE "PHÉNOMÈNE D'ARTHUS"

On peut le schématiser, comme il suit, d'après celui qui l'a découvert.

Quand on injecte, tous les 6 jours, sous la peau d'un *lapin*, 5 c. c. de sérum équin (frais ou chauffé à 56°), la résorption du liquide devient de plus en plus lente à partir de la 5e injection

— lors de la 6e, il se forme, localement, un exsudat épais, blanchâtre et aseptique, qui persiste pendant des semaines — et, à la 7e, on se trouve en face d'un processus d'escharification typique. (Rappelons, avec Arthus, que les chiffres 4, 6, 7 n'offrent, naturellement, rien d'absolu.)

L'hypersensibilité se manifeste de la même façon quand les premières injections ont été pratiquées par la voie abdominale et que l'on « éprouve » ensuite l'animal par la voie sous-cutanée.

L'épreuve intraveineuse, succédant à un traitement sous-cutané ou intrapéritonéal, peut entraîner la mort, soit très rapidement (en quelques minutes — avec polypnée et convulsions), soit à la longue (malaise transitoire ; puis guérison apparente, suivie de cachexie).

Enfin, l'administration quotidienne de 1 c. c. (et moins) de sérum suffit pour provoquer l'anaphylaxie.

Nous avons repris l'histoire du « phénomène d'Arthus », d'abord en espaçant les injections sériques (comme le faisait Arthus lui-même), puis en les renouvelant quotidiennement.

Avant d'entrer dans le détail de ces deux ordres de recherches, il convient de rappeler que, parmi les lapins employés par nous, ont éclaté, à maintes reprises, des épidémies de « maladie du nez ». On sait que cette affection reconnaît pour agent pathogène une *pasteurella*, étudiée par Yourewitch et Haaland et Bridré, bactérie qui persiste incontestablement, dans les épidémies, entre les voies digestives et respiratoires d'un certain nombre d'animaux, toujours prête à envahir leur organisme dès que celui-ci devient hypersensible au sérum équin.

Nous rappellerons aussi que les cobayes, sur lesquels nous pratiquions diverses sortes d'expériences, à la même époque, étaient souvent décimés (et ont continué à l'être) par une autre « maladie du nez », due au pseudo-pneumocoque de Girard. Le pseudo-pneumocoque n'infecte pour ainsi dire jamais les lapins sains, mais il peut s'attaquer aux sujets malades, voire à ceux déjà atteints de pasteurellose.

INJECTIONS SÉRIQUES ESPACÉES

Nous avons administré, par les voies sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse, 5 c.c. de sérum équin chauffé (1/2 heure à 55°), chez des lapins de 2,000 à 2,500 grammes.

INJECTIONS SOUS-CUTANÉES (SOUS LA PEAU DE L'ABDOMEN)

Les résultats obtenus n'affectent point la régularité que semblait impliquer la description d'Arthus. On ne saurait s'en étonner, car tout auteur, ayant découvert un fait nouveau et important, se trouve amené, malgré lui, à le présenter d'une façon quelque peu schématique.

Certains de nos lapins n'ont offert que des œdèmes « moyens », quel que fût le nombre des injections (jusqu'à 16). *Un second groupe* a montré des différences réactionnelles très marquées d'une injection à l'autre ; tandis que, chez *le reste* des sujets, l'hypersensibilité s'est accrue progressivement.

Nous distinguerons, pour la clarté de la description, *3 types de réaction locale : l'œdème moyen, l'œdème inflammatoire* et la *nécrose*. Le premier se développe en une douzaine d'heures, sans modifications des téguments ; il demeure assez limité, acquiert peu de consistance et disparaît au bout de 2-3 jours. Le second atteint son maximum en 3-4 heures ; plus étendu que le premier, il s'accompagne de chaleur et d'une teinte rosée ou rose vif du côté de la peau ; sa consistance devient vite rénitente et sa durée oscille habituellement entre 4 et 5 jours. Quant à ce qui concerne le troisième type, bien décrit par Arthus, il convient de ne pas le confondre avec certaines *nécroses précoces* (survenant dès la 2e ou la 3e injection), dont l'histoire est pleine d'intérêt. Voici comment elles évoluent. L'œdème local, toujours marqué, durcit rapidement tandis qu'un second œdème, déclive, apparaît et s'étend jusqu'au pubis. A l'induration locale, de plus en plus consistante, correspond, *anatomiquement*, un exsudat fibrineux épais, jaune sale, dont les couches, orientées parallèlement, sont séparés par une sérosité trouble et quelquefois roussâtre. L'examen microscopique et les cultures révèlent, au sein des lésions, la présence de la *pasteurella* (de *Z. H.* et *Br*), ordinairement seule, quelquefois associée au pseudo-pneumocoque — rarement celle du pseudo-

pneumocoque seul. Ces infections — dont l'*origine hématogène* ne saurait faire de doute — aboutissent communément à la nécrose cutanée, moins souvent à la formation d'un abcès. Dans l'un et l'autre cas, la santé s'altère bientôt et la mort survient plus ou moins vite, avec ou sans apparition de la rhinite spécifique, lors de pasteurellose.

Les injections de sérum équin provoquent souvent une débilitation notable de l'organisme. Cette *réaction générale* n'offre aucun rapport forcé, soit direct soit inverse, avec la *réaction locale*, dont nous venons de décrire les trois types principaux. Elle peut conduire, d'elle-même, à une cachexie fatale, mais, le plus ordinairement, la mort se trouve hâtée par l'apparition de la « maladie du nez ».

Comme nous avons éliminé systématiquement de notre travail toutes les observations des animaux qui ont succombé à la contagion, lors des épidémies de pasteurellose — comme, d'autre part, le pseudo-pneumocoque ne s'attaque pour ainsi dire jamais aux lapins sains — nous sommes autorisé à conclure que l'hypersensibilité sérique des lapins, de même que l'hypersensibilité des cobayes traités par les bacilles morveux morts « peut se traduire par deux *phénomènes primaires, d'ordre* exclusivement *toxique* ; la réaction locale et la réaction générale — et par un *phénomène secondaire, d'ordre infectieux* : le réveil ou le développement d'une maladie étrangère (le développement se manifestant, selon les cas, localement ou à distance). » [*Etudes sur la morve expérimentale du cobaye.*] Ceux de nos sujets, chez lesquels l'anaphylaxie « s'est traduite par des phénomènes secondaires d'ordre infectieux », se trouvaient donc, au moment où leur hypersensibilité avait acquis un degré marqué, en état d'*infection latente* ou d'*infection virtuelle*. [Voir *loc. cit.*, pour le sens que nous attachons à ces mots.]

INJECTIONS INTRAPÉRITONÉALES

Elles sont presque toujours bien tolérées, quel qu'en soit le nombre (jusqu'à 17), car nous n'avons perdu qu'un seul animal (1 j. 1/2 après la 10e injection — à l'autopsie : sang et

organes stériles). Aussi semblera-t-il naturel d'apprendre qu'elles prédisposent rarement, *par elles-mêmes*, l'organisme à l'envahissement microbien (un seul de nos lapins a été atteint de pasteurellose, après la 6e injection, en dehors de toute épidémie). Par contre, elles sensibilisent les sujets vis-à-vis de l'injection sous-cutanée ou intraveineuse de sérum équin (Arthus) et ainsi, *médiatement*, vis-à-vis des infections dont nous avons parlé. Indiquons, brièvement, le résultat des « épreuves » sous-cutanée et intraveineuse, pratiquées (*6 jours après la dernière injection*) chez les animaux préalablement soumis au traitement intrapéritonéal.

Épreuve sous-cutanée. — La réaction varie d'intensité selon les cas, mais offre toujours, localement, un type anormal. D'autre part, lorsque l'on éprouve les lapins à plusieurs reprises — en remplaçant, aux jours marqués, l'injection intra-abdominale par l'injection sous-cutanée — les résultats varient également d'une séance à l'autre. *Chez certains sujets*, l'hypersensibilité suit une marche incontestablement décroissante. Exemple :

Lapin A. — 8 injections intrapéritonéales. A la 9e, sous-cutanée, œdème inflammatoire. 6 nouvelles injections intrapéritonéales. A la 7e (16e), sous-cutanée, œdème moyen.

Chez d'autres animaux, au contraire, elle fait des progrès évidents et l'on peut voir survenir des infections locales ou à distance, comme dans les deux observations que voici :

Lapin B. — 7 injections intrapéritonéales. A la 8e, sous-cutanée, œdème inflammatoire. 8 nouvelles injections intrapéritonéales. A la 9e (17e), sous-cutanée, nécrose locale avec pseudo-pneumocoque.

Lapin C. — 12 injections intrapéritonéales. A la 13e, sous-cutanée, œdème inflammatoire. 4 nouvelles injections intrapéritonéales. A la 5e (18e), sous-cutanée, œdème inflammatoire très marqué, puis « maladie du nez » (en dehors de toute épidémie).

Épreuve intraveineuse. — Elle rend, parfois, les lapins malades, mais nous ne les avons jamais vus succomber.

INJECTIONS INTRAVEINEUSES

Elles ne sont pas toujours bien supportées et doivent alors être abandonnées, à cause du mauvais état général des animaux. Elles sensibilisent les sujets pour l'épreuve sous-cutanée.

PROPRIÉTÉ ANAPHYLACTISANTE DU SÉRUM DES ANIMAUX TRAITÉS PAR LES INJECTIONS ESPACÉES

Le sérum de 5 lapins, qui avaient reçu (sous la peau, dans le péritoine ou par les deux voies) 5 injections au moins et 9 au plus (nous n'avons point fait de recherches à des périodes antérieures ou ultérieures) — *sérum prélevé une semaine après la dernière injection* — s'est montré anaphylactisant pour les sujets neufs.

Voici comment nous avons pu établir l'existence de cette curieuse propriété. On introduisait, dans le péritoine d'un animal neuf (1.500 à 2,000 grammes), 50 à 60 c. c. de sérum chauffé (1/2 heure à 55°) d'un lapin hypersensible et, parallèlement, dans le péritoine d'un autre animal neuf, 50 à 60 c. c. de sérum (chauffé) d'un lapin normal. Le lendemain, ces deux animaux, ainsi qu'un 3[e] « tout à fait neuf », étaient éprouvés, sous la peau, avec 1-2 c. c. de sérum équin chauffé. Le 3[e] animal offrait, inconstamment, un œdème insignifiant, mou et fugace — l'animal traité par le sérum normal réagissait rarement davantage, ne présentant jamais le degré d'exsudation locale que nous avons appelé « œdème moyen » — l'animal traité par le sérum anaphylactisant montrait, au contraire, le plus souvent (3 fois sur 5) un œdème moyen, moins souvent (2 fois sur 5) un « œdème inflammatoire ».

Le sérum d'un lapin, ayant reçu 5 injections sous-cutanées, mais atteint de la « maladie du nez » au moment de la saignée, ne possédait aucun pouvoir hypersensibilisant.

Nous ne dirons rien ici des *propriétés précipitantes du sérum*, observées chez les lapins traités par la méthode d'Arthus, car il est démontré que ces propriétés n'interviennent nullement dans la production de l'anaphylaxie (v. Pirquet et Schick, Arthus).

INJECTIONS SÉRIQUES QUOTIDIENNES

Nous avons administré, tous les jours, une quantité variable de sérum équin chauffé, par les 3 voies déjà employées précédemment (1,2..... 10 c. c. dans le péritoine, 1 ou 2 c. c. dans les veines, 1 c. c. sous la peau [un seul animal]), chez des lapins de 2,000 à 2,500 grammes. L'expérience a été continuée plus ou moins longtemps selon les cas (maximum : 51 jours). Un

grand nombre d'animaux avaient été mis en expérience, afin d'étudier, systématiquement, l'influence des doses, des voies et du temps. Malheureusement (comme lors de nos recherches avec les injections espacées), des épidémies successives ont enlevé la majorité de nos sujets ; d'où le caractère « dépareillé » des documents que nous résumons ici.

Les *injections intrapéritonéales* quotidiennes ne sont pas toujours bien supportées (même quand on n'administre que 1 c. c.); il en va pareillement pour les *injections intraveineuses*. Chez le seul lapin, traité par les *injections sous-cutanées* (1 c. c.), l'œdème est devenu persistant à partir du 6e jour et volumineux à partir du 12e; l'expérience a duré 27 jours, sans qu'on ait vu apparaître de nécrose locale. En ce qui concerne la voie intrapéritonéale tout au moins, on peut affirmer qu'à doses très voisines et pour un temps à peu près égal les injections quotidiennes l'emportent, comme sévérité, sur les injections espacées.

Nous allons étudier, maintenant, la façon dont nos animaux se sont comportés lors des « épreuves » et la propriété anaphylactisante qu'ont montrée leurs sérums. Inutile d'insister sur les les *accidents infectieux*, observés (en dehors des épidémies) tant à la suite de l'hypersensibilisation qu'après les épreuves.

ÉPREUVES

Elles ont été pratiquées par les voies sous-cutanée, intracérébrale et intraveineuse.

Épreuve sous-cutanée. — On introduisait, dans le tissu cellulaire, 1 c. c. de sérum, *le lendemain de la dernière injection* (intrap. ou intrav.).

Sujets hypers. par la voie intrapérit. — Nous avons observé une réaction anormale chez les lapins qui avaient reçu : 16, 26, 27, 29, 35 injections de 1 c. c.; 13 injections de 2 c. c.; 8 injections de 2 c. c.; 22 injections de 5 c. c.; 8 injections de 10 c. c. Un animal, qui avait reçu 4 injections de 10 c. c., a réagi normalement.

Sujets hypers. par la voie intrav. — Nous avons observé une réaction anormale chez un lapin qui avait reçu 17 injections de 1 c. c. et chez un autre qui avait reçu 10 injections de 2 c. c.

Quelle que soit la dose de sérum préalablement administrée, les animaux ne réagissent donc qu'après un certain temps.

Épreuve intracérébrale. — On introduisait 1 c. c. dans l'un des hémisphères (*le lendemain de la dernière injection*).

Sujets hypers. par la voie intrapérit. — Nous n'avons observé aucun accident chez les lapins qui avaient reçu : 20 injections de 1 c. c., 19 injections de 2 c. c., 11 injections de 4 c. c. Par contre, un animal qui avait reçu 16 injections de 10 c. c. a offert une émaciation notable et prolongée ; un autre, qui avait reçu 10 injections de 5 c. c., est mort cachectique en 30 jours ; un troisième, qui avait reçu 51 injections de 1 c. c., est devenu très vite paraplégique et n'a pas tardé à succomber.

Sujet hypers. par la voie intrar. — Aucun accident, chez un lapin qui avait reçu 20 injections de 1 c. c.

Les observations qui précèdent démontrent que l'encéphale réagit moins fortement que le tissu cellulaire lorsque le traitement préalable des animaux a été sensiblement identique dans les deux cas et que la dose d'épreuve est demeurée la même. Aussi faut-il prolonger davantage l'hypersensibilisation, lorsqu'on se propose d'éprouver les lapins, avec succès, par la voie intracérébrale.

Épreuve intraveineuse. — Les accidents, consécutifs à cette épreuve, ont été rarement notés et nous n'avons jamais observé la mort des sujets. Ici encore, par conséquent, réaction moins marquée que lors de l'épreuve sous-cutanée.

PROPRIÉTÉ ANAPHYLACTISANTE DU SÉRUM DES ANIMAUX TRAITÉS PAR LES INJECTIONS QUOTIDIENNES

Le sérum (chauffé) de 3 lapins, traités respectivement comme il suit :

29 injections de 1 c. c. dans le péritoine ;
51 injections de 1 c. c. dans le péritoine ;
25 injections de 1 c. c. dans les veines,

— *sérum prélevé de lendemain de la dernière injection* — s'est montré anaphylactisant pour les sujets neufs, aux doses de 20-40 c. c. (introduits dans le péritoine), contrairement au sérum (chauffé) de lapin normal, administré en égale quantité. L'épreuve, pratiquée le lendemain par la voie sous-cutanée (1 c. c. de sérum équin chauffé), a engendré des œdèmes inflammatoires chez les deux derniers animaux et un œdème moyen chez le premier.

Le sérum (chauffé) d'un lapin, qui avait reçu 27 injections de 2 c. c. (dans le péritoine), est demeuré inactif (à la dose de 40 c. c.).

Le sérum (chauffé) d'un lapin (animal D), qui avait reçu 27 injections de 1 c. c. (dans le péritoine), a pu hypersensibi-

liser un sujet neuf vis-à-vis de l'épreuve intracérébrale. Voici en résumé, cette observation intéressante :

On injecte 1/2 c. c. de sérum équin (chauffé) dans chacun des hémisphères d'un lapin (1,800 grammes) qui avait reçu, la veille, par la voie abdominale, 36 c. c. de sérum du lapin D. L'animal ne tarde point à présenter des phénomènes nerveux réactionnels et meurt pendant la nuit, sans lésions encéphaliques. Un premier témoin (1,810 grammes), qui avait reçu, la veille, dans le péritoine, 36 c. c. de sérum normal de lapin, et un second témoin (1,830 grammes), tout à fait neuf, ont supporté impunément la même épreuve intracérébrale. (Les injections dans l'encéphale ont été pratiquées par notre collègue le Dr Delezenne, qui suivait de près nos expériences d'anaphylaxie passive).

Nous laisserons de côté, ici encore, la question des précipitines et, réunissant tous les cas d'hypersensibilité transmise contenus dans notre travail, nous conclurons que le *phénomène d'Arthus est fonction d'un anticorps spécial et spécifique* (ou de plusieurs anticorps — ce point sera discuté autre part). Si la mise en évidence de l'anticorps n'est pas toujours possible (ce qui tient à l'imperfection de nos méthodes), elle constitue cependant la règle. On s'étonnera, peut-être, que nous ayons administré d'aussi fortes quantités de sérum spécifique pour réaliser l'anaphylaxie passive. A la vérité, nous n'avons point fait d'essais avec des doses inférieures, car nous savions, par expérience, quelles difficultés insurmontables on rencontre pour mettre en évidence les substances hypersensibilisantes et cette donnée nous avait naturellement suggéré l'idée que de telles substances se trouvent toujours dans un état de très faible concentration au sein des humeurs. L'événement a prouvé que nous avions raison d'opérer *larga manu* puisque, deux fois, les résultats sont demeurés négatifs (l'un de ces résultats, il est vrai, pourrait probablement s'expliquer par l'infection du lapin fournisseur de sérum).

En dehors des *injections espacées* (du type Arthus) et des *injections quotidiennes*, nous avons eu recours, également, à d'autres modes d'hypersensibilisation. Malheureusement, les séries correspondantes d'animaux ont été tellement décimées, lors des épidémies de pasteurellose, que nous ne saurions les utiliser dans ce travail. Bornons-nous à mentionner les *injections uniques*, lesquelles peuvent déterminer l'anaphylaxie, après une incuba-

tion de 8 jours, comme l'ont vu, de leur côté, v. Pirquet et Schick.

L'ANAPHYLAXIE CHEZ LES COBAYES

Selon Arthus, les cobayes seraient susceptibles de présenter de l'hypersensibilité, quand on les soumet aux injections espacées de sérum équin. Nos recherches (très nombreuses) confirment cette opinion, mais nous devons ajouter, immédiatement, que l'anaphylaxie, obtenue d'après le procédé d'Arthus, demeure toujours modérée.

Si l'on introduit, tous les jours, 2 c. c. de sérum de cheval (chauffé) dans leur péritoine, les sujets supportent habituellement bien ce traitement. (Quelques-uns, cependant, sont enlevés [en dehors des épidémies] par le pseudo-pneumocoque : péritonite ou « maladie du nez »). Éprouvés, à un moment donné, par l'*injection sous-cutanée* de 1-2 c. c. de sérum équin, ils offrent, sans exception, un œdème plus marqué que celui des animaux neufs témoins ; éprouvés par l'*injection intracardiaque* (1-2 c. c.), ils présentent, inconstamment, une émaciation plus ou moins notable. Lorsque l'on renouvelle l'épreuve à différentes reprises (en substituant, aux jours marqués, une injection sous-cutanée ou intracardiaque à l'injection intrapéritonéale), la réaction vis-à-vis de l'épreuve sous-cutanée conserve presque toujours son caractère anormal (même à la 18e ou à la 19e injection) et la réaction vis-à-vis de l'épreuve intracardiaque son inconstance. Somme toute, anaphylaxie de moyenne intensité, mais, le plus souvent, durable.

La méthode d'Arthus, et aussi celle des injections quotidiennes (comme le prouve un certain nombre d'expériences, que nous croyons inutile de rapporter en détail), se montrent donc impropres à déterminer, chez le cobaye, ce haut degré d'hypersensibilité que nous ont révélé les recherches de Otto et de Rosenau et Anderson. Pour réaliser ce que le premier de ces auteurs a appelé le « phénomène de Th. Smith », il ne faut pratiquer qu'*une seule injection* de sérum — et à *dose minime*.

Nous avons laissé systématiquement de côté, d'un bout à l'autre de ce travail, toute espèce de considération théorique ; on trouvera exposée, ailleurs et plus tard, la façon dont nous concevons le phénomène d'Arthus et ses analogues.

LES "ANTICORPS SYPHILITIQUES"

dans le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux ET DES TABÉTIQUES

PAR MM.

A. MARIE (DE VILLEJUIF) ET C. LEVADITI

(Travail du laboratoire de psychologie pathologique de l'Asile de Villejuif et du laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Wassermann, A. Neisser et Bruck [1] ont eu l'idée d'appliquer, à la recherche des *anticorps* et des *antigènes* syphilitiques, la méthode de Bordet et Gengou [2], basée sur l'absorption de la cytase hémolytique par le composé qui se forme lorsqu'on met en présence ces anticorps et ces antigènes. Cette méthode s'est montrée d'une grande précision contre les mains de ses inventeurs, de Moreschi [3], de Wassermann et Bruck [4], de M. Neisser et Sachs [5], de Müller et Oppenheim [6] qui s'en sont servi pour dépister les anticorps et les antigènes de plusieurs espèces microbiennes, en particulier du b. tuberculeux et du gonocoque, ainsi que des traces de sang humain indécelables par le procédé des précipitines (M. Neisser et Sachs). A l'aide de cette méthode, Wassermann et ses collaborateurs ont reconnu l'existence d'antigènes syphilitiques (produits dérivés du *Treponema pallidum*) dans le sang et les extraits d'organes provenant d'hommes (nouveau-nés et adultes) et de singes syphilisés, de même que la présence d'anticorps anti-syphilitiques dans le sérum des simiens ayant reçu plusieurs inoculations de virus spécifique. La vérification à laquelle Bab [7] a soumis cette méthode a montré que, pour ce qui a trait à la syphilis, elle fournit des indications conformes aux données microbiologiques ; en effet, dans six cas d'hérédo-syphilis examinés par l'auteur, la présence du *Trepo-*

1. WASSERMANN, A. NEISSER ET BRUCK, *Deutsche med. Woch.*, vol. XXXII, n° 19, p. 745.
2. BORDET ET GENGOU, *Annales de l'Institut Pasteur*, vol. XV, 1901, n° 3, p. 290.
3. MORESCHI, *Berl. klin. Woch.*, vol. XLII, 1905, n° 27, p. 1181.
4. WASSERMANN ET BRUCK, *Deutsche med. Woch.*, vol. XXXII, 1906, n° 12, p. 450.
5. NEISSER ET SACHS, *Berl. kl. Woch.* 1905, n° 44, 1906, n° 3.
6. MULLER ET OPPENHEIM, *Wiener klin. Woch.*, XIX, 1906, n° 29, p. 894.
7. BAB, *Deutsche med. Woch*, vol. 32, n° 49, 1906, p. 1,985.

nema pallidum dans les viscères, décelé à l'aide de la méthode à l'argent, fut en rapport avec les résultats obtenus par Wassermann au moyen de la réaction de Bordet et Gengou.

Etant donné l'intérêt capital qui se rattache à la question tant discutée des relations entre la paralysie générale, le tabès et l'infection syphilitique, Wassermann et Plaut[1] d'une part, Neisser, Bruck et Schucht[2] d'autre part, ont entrepris des recherches dans le but de préciser ces relations à l'aide de la méthode dont il vient d'être question. Ils ont examiné dans ce but le liquide céphalo-rachidien des paralytiques et des tabétiques et y ont recherché soit des antigènes, soit et surtout des anticorps syphilitiques. Les résultats qu'ils ont fait connaître sont des plus intéressants et viennent confirmer la thèse soutenue par la clinique et vérifiée par la statistique, à savoir la fréquence exceptionnelle des antécédents spécifiques chez les individus atteints de paralysie générale progressive, ou de tabes dorsalis.

Ainsi, Wassermann et Bruck trouvent des anticorps syphilitiques dans le liquide cérébro-spinal de 36 paralytiques, parmi les 41 examinés, ce qui donne un pourcentage de 88 0/0. Examiné à ce point de vue, parallèlement avec le sérum sanguin, le liquide céphalo-rachidien des paralytiques s'est montré plus riche en anticorps que le sérum. Ceci amène Wassermann et Bruck à admettre que la présence d'un excès d'anticorps dans ce liquide, doit être attribuée à une production de principes défensifs par le système nerveux central, lequel a été, ou est encore le siège d'un processus syphilitique plus ou moins accusé.

D'un autre côté, A. Neisser, Bruck et Schucht découvrent des anticorps spécifiques dans le liquide cérébro-spinal de quatre paralytiques généraux et de deux tabétiques, cependant qu'ils ne décèlent qu'exceptionellement des *antigènes* (produits dérivés du *Treponema pallidum*) dans ce liquide. Ces observateurs affirment que ce genre de recherches permet de dépister l'infection syphilitique là où l'enquête clinique ne fournit aucune indication précise à ce propos[3].

1. Wassermann et Plaut, *Deutsche med. Woch*, vol. XXXII, nº 44, 1906, p. 1769.
2. Neisser, Bruck et Schucht, *Deutsche med. Woch.*, vol. XXXII, nº 48, p. 1937.
3. Dans un travail publié tout récemment (*Berl. klin. Woch.*, vol. XXXIV, nº 5, février 1907), Schutze confirme la présence d'anticorps dans le liquide céphalo-rachidien des tabétiques.

Rappelons, pour clore cet aperçu historique, que ni Wassermann et Plaut, ni Neisser et ses collaborateurs n'ont réussi à mettre en évidence des anticorps ou des antigènes syphilitiques dans le liquide céphalo-rachidien provenant d'individus non paralytiques et non syphilitiques, pris comme témoins [1].

Peu après la publication du travail de Wassermann et Plaut, nous avons eu l'occasion d'appliquer la méthode proposée par ces observateurs, à l'étude du liquide céphalo-rachidien d'un certain nombre de paralytiques généraux et de tabétiques atteints de troubles mentaux, dans le service de l'un de nous, à l'Asile de Villejuif. Nos premiers résultats, conformes à ceux de Wassermann et Plaut, ont été déjà consignés dans une note présentée à la Société médicale des Hôpitaux [2]. Dans le présent mémoire nous apportons, en plus de ces résultats, toute une série de recherches complémentaires, dont le nombre est actuellement suffisamment élevé, pour permettre de juger la valeur de la séro-réaction du liquide céphalo-rachidien au point de vue du diagnostic de la paralysie générale et de formuler une opinion au sujet de la signification de cette réaction.

II

La *méthode* que nous avons suivie dans nos recherches a été, à peu de choses près, celle de Wassermann et Plaut. En voici le principe : Toute combinaison hémolysante comporte la mise en jeu de trois facteurs : *la cytase* ou le *complément*, un sérum hémolytique spécifique (*ambocepteur*) préparé en injectant à une espèce animale *a* des hématies provenant de l'espèce étrangère *b* [3], et les globules rouges de l'espèce *b*. Lorsque ces trois principes se trouvent mélangés à une température de 36°, on observe la dissolution des hématies et la mise en liberté de l'hémoglobine.

Or, si avant de soumettre ces hématies à l'influence de l'ambocepteur hémolytique, on introduit dans la réaction un mélange d'*antigène* et d'*anticorps* (p. ex. des vibrions cholériques et du sérum anti-cholérique, ou du b. typhique et le sérum

1. Parmi ceux-ci, certains étaient atteints de lésions méningées (méningite cérébro-spinale épidémique).

2. Marie et Levaditi, Société médicale des hôpitaux, séance du 21 décembre 1906.

3. Ce sérum est préalablement chauffé à 56° pour détruire sa propre cytase.

correspondant), on constate que la dissolution des érythrocytes est plus ou moins complètement entravée et qu'une partie ou la totalité des hématies continuent à garder leur hémoglobine. Les recherches de Bordet et Gengou ont prouvé que cet empêchement de l'hémolyse est provoqué par l'absorption de la cytase par la combinaison formée entre l'antigène et l'anticorps. Il résulte donc que cette réaction peut servir à déceler la présence soit des antigènes, soit des anticorps dans certains liquides organiques, qui, par eux-mêmes, sont incapables d'entraver la dissolution des globules rouges.

Puisque dans le cas de la paralysie générale ou du tabes, il s'agit de la recherche d'anticorps syphilitiques dans le liquide céphalo-rachidien, il va de soi que l'expérience ne pourra être menée à bonne fin, qu'à la condition de préparer d'avance une combinaison hémolysante (cytase, ambocepteur et hématies) et l'antigène syphilitique. Pour ce qui a trait au *système hémolytique*, nous nous sommes servis :

1º De cytase de cobaye (sérum frais) ;

2º D'un ambocepteur contenu dans le sérum de lapins ayant reçu plusieurs injections de sang de mouton (ce sérum a été préalablement porté à 56º pendant un quart d'heure [1]) ;

3º D'hématies de mouton (solution de sang défibriné dans de l'eau salée, à la dose de 5 0/0).

Nous avons préparé notre *antigène* avec du foie et de la rate provenant d'un nouveau né hérédo-syphilitique dont les organes ont été mis obligeamment à notre disposition par M. le professeur Pinard. Ce foie et cette rate contenaient un très grand nombre de *Treponema pallidum*, comme nous avons pu nous en assurer en pratiquant l'examen de ces tissus à l'aide du procédé à l'argent. Après trituration dans l'appareil de Borrel, les tissus ont été suspendus dans de l'eau salée isotonique, à raison de 20 grammes d'organe pour 100 de liquide, et additionnés de 0.5 0/0 d'acide phénique. Au début de nos expériences, nous avons employé comme antigène l'extrait de foie et de rate obtenu après centrifugation de l'émulsion préparée comme il vient d'être indiqué. Mais, par crainte de modifications spontanées dans la constitution de cet extrait, nous avons abandonné ce procédé et nous nous sommes servis de liquides obtenus avec du foie préalablement desséché. Pour ce faire, nous avons soumis à la dessiccation dans le vide et sur de l'acide sulfurique, la bouillie d'organes syphilitiques et nous avons trituré dans un mortier d'agathe la poudre ainsi obtenue. Nous avons ensuite ajouté à cette poudre de l'eau salée en raison de 30 c. c. par gramme et, après un séjour de 20 heures à la glacière, nous avons centrifugé l'émulsion. Le liquide clair surnageant nous a servi comme antigène [2].

1. Au début de nos recherches, nous avons employé du sérum de lapin préparé avec des hématies de bœuf.

2. Ajoutons que le foie desséché conserve indéfiniment ses propriétés, ce qui n'est pas le cas de l'extrait liquide (cf. Wassermann et Plaut).

Le liquide céphalo-rachidien, retiré par ponction lombaire, a été, avant l'emploi, dilué au cinquième avec de l'eau salée. Nous avons remarqué, au cours de nos recherches, qu'il est inutile de chauffer préalablement ce liquide à la température de 56°, comme le recommandent Wassermann et Plaut. Nos liquides, introduits dans la réaction après un séjour de un ou deux jours à la glacière, se sont montrés, en effet, dépourvus de cytase.

Le tableau I montre le dispositif expérimental qui nous a servi au cours de nos recherches :

TABLEAU I

Nos	Liquide céph. rach. au 5me	Extrait de foie syph.	Cytase de cobaye 1/2.	Ambo-cepteur hémo-lytique.	SANG 5 °/o.	EAU salée.	RÉSULTAT après 30′ de séjour à 36°.
1	1 c. c.	0,025	0,1	0,1	1 c.c.	0,8	Trace d'empêchement.
2	1 —	0,05	0,1	0,1	1 —	0,75	Empêchement manifeste.
3	1 —	0,1	0,1	0,1	1 —	0,7	Empêchement presque complet.
4	1 —	0,2	0,1	0,1	1 —	0,6	— complet.
5	1 —	0,4	0,1	0,1	1 —	0,4	— complet.
6	1 —	0,6	0,1	0,1	1 —	0,2	— complet.
7	1 —	1,0	0,1	0,1	1 —	—	— complet.
8	—	0,025	0,1	0,1	1 c.c.	1,8	Hémolyse complète.
9	—	0,05	0,1	0,1	1 —	1,75	
10	—	0,1	0,1	0,1	1 —	1,7	
11	—	0,2	0,1	0,1	1 —	1,6	
12	—	0,4	0,1	0,1	1 —	1,4	
13	—	0,6	0,1	0,1	1 —	1,2	
14	—	1,0	0,1	0,1	1 —	1,0	
15	1 c. c.	—	0,1	0,1	1 c. c.	0,8	Hémolyse complète.
16	—	—	0,1	0,1	1 —	1,8	Hémolyse complète.
17	—	—	—	—	1 —	2,0	Pas d'hémolyse.
	II	III	IV	V	VI	I	

La quantité de cytase employée a varié suivant le pouvoir sensibilisateur de l'ambocepteur hémolytique et la force réactivante de cette cytase qui, chez les divers cobayes neufs, oscille dans des limites assez étroites. Nous avons utilisé, en général, le double de la quantité de cytase qui suffirait pour réactiver 0,1 d'ambocepteur. Nous avons disposé l'expérience de la façon suivante :

On mélangeait tout d'abord l'eau salée (I) au liquide céphalo-rachidien (II), à l'extrait d'organes syphilitiques (III) et à la cytase (IV). Puis, on maintenait le tube contenant ce mélange à 36° pendant deux heures. On ajoutait alors successivement l'ambocepteur (V) et les hématies (VI) et on soumettait à nouveau les tubes à 36°. On examinait le résultat de l'expérience une demi-heure ou une heure après.

L'examen du tableau I montre qu'aux doses employées par nous, ni le liquide céphalo-rachidien ni l'extrait d'organes syphilitiques n'empêchaient l'hémolyse. Par contre, les mélanges de ce liquide et de cet extrait engendraient un empêchement manifeste et le plus souvent complet de la dissolution des hématies, à la condition que le liquide cérébro-spinal provienne de paralytiques généraux ou de tabo-paralytiques. La force empêchante de l'extrait de foie syphilitique mélangé au liquide céphalo-rachidien était assez considérable, puisque cet extrait agissait à la dose de 0.1 c. c. et même de 0.05 c. c.

III

Nous avons appliqué la réaction de Wassermann et Plaut à l'étude du liquide céphalo-rachidien chez 67 malades de notre service, et nous avons fait un nombre de réactions supérieur à ce chiffre. En effet, dans plus d'un cas, nous avons examiné la teneur de ce liquide en anticorps, à plusieurs reprises chez un même malade. Voici les résultats fournis par nos recherches :

1° PARALYSIE GÉNÉRALE

Le nombre total des paralytiques généraux a été de 39. Nous nous sommes efforcés de soumettre à notre examen les cas les plus variés comme forme de la maladie, comme gravité des symptômes, comme allure d'évolution, etc., et si, dans la grande majorité de nos recherches, nous nous sommes adressés à des paralytiques généraux types, nous avons eu soin également d'examiner des individus dont le diagnostic de P. G. était douteux, les symptômes étant relativement peu accusés. Ceci était nécessaire, vu que nous désirions nous faire une opinion de la valeur de la méthode au point de vue des services qu'elle pourrait rendre au diagnostic précoce de l'affection paralytique.

Parmi ces 39 *cas,* 29 *ont donné une réaction positive, ce qui fournit un pourcentage de* 73 *p.* 100. Ce pourcentage est inférieur à celui de Wassermann et Plaut (88 0/0). D'après nous, cette différence s'explique par le fait que nous avons soumis à notre examen les types les plus variés de paralysie générale, des formes légères comme des formes très avancées. Or, si dans ces formes avancées la réaction est presque constamment positive, elle est le plus souvent négative chez les paralytiques pris au début de l'évolution de l'affection (v. plus loin).

Le tableau n° II résume les données concernant nos recherches sur la paralysie générale. Nous avons eu soin d'indiquer dans ce tableau les caractères les plus saillants de la maladie et de classer nos observations en trois catégories. Voici quels ont été les critériums ayant servi à cette classification :

Presque tous nos malades présentaient la triade de symptômes caractéristiques de la paralysie générale, à savoir l'inégalité pupillaire, l'embarras de la parole et la démence amnésique.

Ont été rangés dans la *première catégorie :*

a) Des cas atypiques, passibles du diagnostic de *pseudo-paralysie générale :*

b) Des paralytiques généraux avérés, mais dont la maladie évoluait lentement, présentant des rémissions suivies de rechutes (forme en cascade). Plusieurs de ces malades avaient quitté l'Asile, pour y revenir quelque temps après;

De la *seconde catégorie* font partie des paralytiques généraux avérés, plus avancés que ceux de la première, mais qui étaient capables de travailler, ayant conservé une partie de leurs facultés.

Enfin, appartiennent à la *troisième catégorie* les paralytiques généraux très avancés, pour la plupart gâteux et alités. Certains de ces malades ont d'ailleurs succombé depuis le commencement de nos recherches, lesquelles remontent déjà à plusieurs mois.

TABLEAU II. — *Paralysie générale.*

Nos	NOM du MALADE	AGE	Diagnostic.	Période de la maladie	Date d'entrée.	Indications sur la syphilis.	Résultat de la réaction.	OBSERVATIONS
1	Rab....	35	P. g.	I.	Juil. 06	*Accid. vénériens* il y a 8 ans.	Zéro.	Etat stationnaire.
2	Rouss...	38	P. g.	I.	Sept. 06	Nie la syphilis.	+ + +	
3	Ab.....	53	P. g.	I.	Avril 06	Nie la syphilis.	Zéro.	Forme à évol. lente (2 entrées, la 1re en 1902).
4	Ducls....	49	P. g.	I.	Janv. 03	Nie la syphilis.	Zéro.	Forme à évol. lente.
5	Cra.....	28	P. g.	I.-II.	Nov. 02	*Syph. en* 1892.	Zéro. ++++	Le liquide d'une seconde ponction faite 23 j. plus tard, a donné une *réact. positive*.
6	Bar.....	40	Pseudo P.g.		Déc. 05	Nie la syphilis.	Zéro +	Alcoolique. A une seconde ponction faite 34 j. après *réact. positive faible*.
7	Am.....	41	P. g.	I.	Oct. 03	Nie la syphilis.	Zéro.	Forme à rechutes.
8	He.....	35	P. g.	I.	—	—	Zéro.	Pas d'antécédents connus.
9	Beau....	39	P. g.	I.	Oct. 03	—	Zéro.	Pas d'antécédents connus. Forme lente.
10	Rob....	32	P. g.	I.	Oct. 06	*Syph. en* 1893.	Zéro.	Forme à rémission.
11	To......	43	P. g.	II.	Août 05	*Syph. en* 1898.	+	Sa femme a actuellement des acc. syph.
12	Er......	45	P. g.	I.	Juin. 05	*Syph. il y a* 20 *ans*.	++++	Evolue de la 1re à la 2e période
13	Dau....	34	P. g.	II.	Janv. 06	?	++++	
14	Go.....	38	P. g.	II.	Janv. 06	?	++++	Demi-rémission.
15	Dr......	33	P. g.	II.	Oct. 1900	Nie la syphilis.	Zéro.	Stationnaire.
16	Del.....	40	P. g.	II.	Juil. 06	*Syph. il y a* 18 *ans*.	+	
17	Dup....	46	P. g.	II.	Sept. 06	*Syph. douteuse*.	++++	
18	Bl......	51	P. g.	II.-III	Juin 05	?	Zéro.	
19	Ver....	48	P. g.	II.	Août 04	Pas d'indic.	+++	

TABLEAU II. — *Paralysie générale (Suite.)*

Nos.	NOM du MALADE	AGE	Diagnostic.	Période de la maladie	Date d'entrée.	Indication sur la syphilis.	Résultat de la réaction.	Observations.
20	Bar.....	46	P. g.	III.	Jan. 06	*Syph. il y a 20 ans.*	++++	
21	Lef.....	47	P. g.	III.	Juil. 06	*Syph. douteuse.*	+	
22	Jan.....	66	P. g.	III.	Nov. 05	*Syphilis ancienne*	++	
23	Ser.....	45	P. g.	III.	Août 03	*Syphilis ancienne*	++	
24	Qui.....	36	P. g.	III.	Sept. 06		+	Pas d'antécédents.
25	Ler.....	35	P. g.	III.	Mai 04	*Syphilis ancienne*	++	
26	Lagn...	33	P. g.	III.	Juil. 05	*Syph. il y a 16 ans.*	+	Forme dépressive.
27	Sa......	34	P. g.	III.	Nov. 06	*Syph. il y a 16 ans.*	++	*Décédé depuis.*
28	Rou....	38	P. g.	III.	Avril 06	*Syph. il y a 23 ans*	++	
29	Cor.....	39	P. g.	III.	Nov. 06	*Syph. il y a 21 ans.*	++++	Commence à entrer dans la 3e période.
30	Phi.....	34	P. g.	II.-III	Déc. 06		+++	Pas d'indications sur la syphilis.
31	Dor.....	50	P. g.	III.	Mai 06	?	++++	Sa femme lui aurait communiqué aff. vénérienne. *Décédé depuis.*
32	Laur...	38	P. g.	III.	Jan. 06	*Syph. il y a 20 ans*	++++	
33	Cal.....	39	P. g.	III.	Jan. 06	*Syph. probable.*	++++	*Décédé depuis.*
34	Barn...	44	P. g.	III.	Oct. 05		+++	Pas d'indic. sur la syphilis.
35	Guéd...	27	P. g.	III.	Oct. 06	*Maladie vén. au régiment*	Zéro.	Démence paral. type. *Décédé depuis.*
36	Her....	41	P. g.	III.	Jan. 06		++++	Pas d'indication sur la syphilis. *Décédé depuis.*
37	Pon....	55	P. g.	III.	Déc. 06	Nie la syph.	++++	
38	Beau...	37	P. g.	II.-III	Jan. 07	*Syph. il y a 15 ans.*	++++	
39	Delph..	42	P. g.	III.	Août 06	Nie la syph.	++++	

L'analyse des données résumées dans le tableau II permet quelques réflexions, dont voici les principales :

a) Si l'on fait le pourcentage des cas ayant donné une réaction positive, dans chacune des trois catégories qui viennent d'être définies, *prise à part*, on obtient les chiffres suivants :

1re *catégorie* : 10 cas, dont *un* positif = 10 p. 100.

2e *catégorie*, 9 cas dont *sept* positifs = 77 p. 100.

3e *catégorie*, 20 cas dont *dix-neuf* positifs = 95 p. 100.

Ces chiffres sont des plus expressifs. *Ils prouvent l'existence d'une relation intime entre la fréquence des résultats positifs fournis par la réaction de Bordet et Gengou et l'état avancé de la paralysie générale.* Or, comme dans le dispositif expérimental imaginé par Wassermann et Plaut, cette réaction est un indice de la présence d'anticorps syphilitiques dans le liquide céphalo-rachidien, cela revient à dire que *ces anticorps s'accumulent dans le liquide cérébro-spinal au fur et à mesure que le processus morbide de la paralysie générale avance et que s'aggravent les altérations encéphalo-méningées qui forment le substratum matériel de ce processus.* La preuve de l'existence d'un lien de causalité entre les deux facteurs qui viennent d'être cités, réside dans le fait que, dans plus d'un cas, l'examen du liquide céphalo-rachidien, fait à deux reprises et à un intervalle de quelques semaines chez le même individu, nous a montré l'existence d'un accroissement dans la richesse de ce liquide en principes actifs. Or, l'observation clinique montrait une aggravation parallèle du syndrome paralytique chez ces individus ;

b) L'examen du même tableau permet de préciser jusqu'à quel point la présence dans le liquide céphalo-rachidien, de substances capables d'empêcher l'hémolyse, est en rapport avec les *antécédents syphilitiques* des paralytiques généraux. Dès l'abord, il faut reconnaître que l'enquête clinique est assez souvent impuissante à nous renseigner d'une façon exacte sur ces antécédents, étant donné l'état mental des paralytiques généraux. Aussi avons-nous eu soin de ne consacrer dans le tableau II que les données qui méritaient quelque confiance, étant corroborée d'une part par des renseignements précis fournis par le malade lui-même, d'autre part par les témoignages de sa famille.

Parmi les 39 paralytiques examinés par nous, *vingt* étaient

sûrement ou *très probablement* syphilitiques, leur syphilis remontait à 8,15 et même 23 ans en arrière. Si l'on calcule le pourcentage des réactions positives chez ces vingt paralytiques généraux syphilitiques, on le trouve égal à 80 0/0. *Cela montre de la façon la plus nette que la syphilis doit être considérée au moins comme une des causes qui provoquent, chez les paralytiques généraux, l'apparition de substances empêchantes dans le liquide cérébro-spinal.* Cette conclusion est d'autant plus justifiée que, si on fait le pourcentage des cas ayant donné une réaction positive chez les *paralytiques généraux qui nient avoir eu une affection vénérienne quelconque*, on le trouve égal à 36 0/0, c'est-à-dire sensiblement inférieur à celui fourni par les malades ayant des antécédents spécifiques. D'ailleurs, le fait que, dans quelques observations (n° 2, 37 et 39), la recherche des anticorps dans le liquide céphalo-rachidien a donné des résultats positifs, quoique les malades aient formellement nié la syphilis, ne saurait être invoqué comme un argument contre ce que nous venons de dire. En effet, cette syphilis niée peut n'être qu'une syphilis ignorée, ou oubliée par des malades atteints d'amnésie démentielle.

c) Parallèlement à la recherche de la réaction de Bordet et Gengou, nous avons examiné le liquide céphalo-rachidien de certains de nos malades au point de vue de sa richesse en éléments figurés et de sa teneur en matière protéique[1] (*albumo-diagnostic*). Le cyto-diagnostic nous a montré l'absence de tout rapport constant entre la présence de lymphocytes dans ce liquide et sa richesse en principes capables d'empêcher l'hémolyse. Il a été fréquent de rencontrer des liquides donnant une forte séro-réaction et qui cependant ne contenaient que peu d'éléments cellulaires. Par contre, et quoique le nombre de nos observations soit encore restreint, nous pouvons affirmer *l'existence d'un parallélisme frappant entre les données fournies par la séro-réaction et celles de l'albumo-diagnostic*[2].

1. On pratique l'albumo-diagnostic de la façon suivante : on mélange, à volumes égaux, du liquide céphalo-rachidien préalablement filtré ou centrifugé, et une solution saturée de sulfate de soude. La réaction est positive, lorsque l'ébullition provoque l'apparition d'un trouble apparent.

2. Dans cinq cas de paralysie générale et dans trois cas de P. G.-tabès, la méningo-encéphalite type a été constatée à la nécropsie.

2° TABÈS ET TABO-PARALYSIE

Le nombre des tabétiques, non paralytiques généraux, observés par nous, a été restreint (4) et il en fut presque de même de celui des malades atteints à la fois de tabès et de paralysie générale (5). Nous résumons dans le tableau III le résultat de l'examen du liquide céphalo-rachidien dans ces neuf cas de tabès pur ou associé.

TABLEAU III. — *Tabès et tabo-paralysie.*

Nos	Nom du malade.	Age.	Diagnostic.	Date de l'entrée	Indications sur la syphilis.	Résultat de la réaction.	OBSERVATIONS
1	Bi......	48	Tabo-par.	Oct. 06.	Syph. douteuse.	++++	*Décédé depuis.*
2	Imb....	46	Tabo-par.	No. 06.	—	++++	Pas d'indic. sur la syphilis.
3	Val.....	43	Tabo-par.	Dé. 06.	Nie la syph.	++++	*Déc. dé depuis.*
4	Depl....	47	Tabo-par.	Juil. 06.	—	Zéro.	Pas d'indic. sur la syphilis. P. g. à début tabétique.
5	Coif....	70	Tabo-par.	Oct. 06.	Nie la syph.	+++	P. g. à début tabétique. *Décédé depuis.*
6	Guer..	43	*Tabès.*	Dé. 05.	—	+++	Tabès avec affaibliss. intellectuel.
7	Gauch..	45	*Tabès.*	Ao. 06.	Syph. anc.	Zéro.	Tabès avec affaibliss. intellectuel.
8	Fo......	55	*Tabès.*	Juil. 06.	Syph. il y a 18 ans.	Zéro. (++)	Tab. démentiel. *Réact. légèrement positive* à une IIe ponction.
9	Liar....	52	*Tabès.*	Jan. 06.	—	Zéro.	Tabès avec affaibliss. intellectuel.

Ce tableau montre que le *pourcentage des réactions positives dans le tabès pur ou associé est inférieur à celui de la paralysie générale, puisqu'il n'atteint que le chiffre de* 66 0/0 *au lieu de* 73 0/0.

Il semble être plus petit encore, si l'on s'adresse exclusivement aux cas de tabès non combiné à la paralysie générale (50 0/0 au lieu de 80 0/0). Mais le nombre de nos observations est trop insuffisant, pour permettre de formuler une conclusion définitive au sujet de la fréquence des anticorps spécifiques dans le liquide céphalo-rachidien des tabétiques. Tout ce que l'on peut dire, c'est que ces anticorps existent réellement et que cela fournit un argument de plus en faveur du lien intime qui relie le tabès à la maladie de Bayle.

TABLEAU N° IV. — *Cas témoins.*

N°	Nom du malade.	Diagnostic.	Indications sur la syphilis.	Résultat de la réaction.
1	Bom........	Mélancolie.	—	Zéro.
2	R[illegible]h... ...	Démence épileptique.	—	—
3	Ca..........	Epileptique.	—	—
4	Mar.........	Mal. de Little.	—	—
5	Ger.........	Dém. traumat.	—	—
6	Lem........	Idiotie.	—	—
7	Dup........	Saturnin. Hémiplégiq.	—	—
8	Saubl.......	Saturnin. alcoolique.	—	—
9	Ol..........	Persécuté.	*Syphilitique. en* 1901.	—
10	Math........	Dém. préc.	*Syphilitique. en* 1897.	—
11	Bl..........	Imbécile.	—	—
12	Fran........	Dem. précoce.	—	—
13	West.......	Idiotie.	—	—
14	Bouch......	Epilepsie.	—	—
15	Fur.........	Dém. préc.	—	—
16	Liz.........	Dém. préc.	—	—
17	Charb.......	Dém. traum.	—	—

3° CAS TÉMOINS

Nos cas témoins ont été choisis parmi les mélancoliques, les épileptiques, les idiots, les déments alcooliques ou traumatiques de notre service. Ils sont au nombre de 17, et se trouvent résumés dans le tableau IV.

Ce tableau nous dispense de tout commentaire. *La séro-réaction du liquide céphalo-rachidien provenant de ces 17 cas témoins nous a constamment fourni un résultat négatif.*

IV

Les constatations que nous venons de résumer dans ce qui précède, nous permettent de synthétiser de la façon suivante les indications fournies par l'étude du liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux et des tabétiques, à l'aide de la méthode proposée par Wassermann et Plaut :

Il faut tout d'abord reconnaître que, du moins, pour ce qui concerne la paralysie générale, la proportion des réactions positives est suffisamment élevée pour pouvoir considérer l'apparition de substances spécifiques dans le liquide céphalo-rachidien comme un phénomène presque constant.

La question est de savoir si la méthode appliquée par Wassermann et Plaut peut servir à faciliter le diagnostic de paralysie générale, dans le cas où la clinique n'a pas à sa disposition des données suffisantes pour affirmer ce diagnostic avec certitude. Notre étude nous autorise à répondre négativement à cette question. En effet, nous venons de voir que précisément, lorsque le clinicien se trouve embarrassé pour formuler un diagnostic sûr, la méthode des anticorps donne des résultats négatifs ou peu certains, et ce n'est que dans la paralysie générale, confirmée et même avancée, que ces résultats deviennent franchement affirmatifs. D'ailleurs, quand même la recherche des anticorps dans le liquide cérébro-spinal donnerait des indications pouvant guider le clinicien dans des circonstances embarassantes, elle ne saurait encore servir couramment dans la pratique journalière. Le maniement de la méthode est des plus délicats et exige un certain nombre de dosages préliminaires assez minutieux. Bien entendu, cela n'enlève nullement aux constatations de Wassermann et Plaut leur intérêt théorique.

Ainsi, un des problèmes qui se posent à l'esprit est celui des conditions qui président à l'apparition des principes spécifiques découverts par les observateurs allemands, dans le liquide céphalo-rachidien. Ce que nous venons d'énoncer dans le chapitre II nous autorise à accorder, avec Wassermann et Plaut, un rôle prépondérant à l'infection par le *Treponema pallidum* dans la genèse de ces principes spécifiques. *Mais la syphilis suffit-elle à elle seule pour provoquer la pénétration des anticorps spécifiques dans le liquide céphalo-rachidien?* Nous ne le pensons pas et voici pourquoi :

Parmi nos malades pris comme témoins, qui n'avaient aucun signe de paralysie générale, il s'en trouve deux (n[os] 9 et 10) qui sont sûrement des anciens syphiliques; or, le liquide céphalo-rachidien de ces malades atteints, l'un de manie de persécution et l'autre de démence précoce, s'est montré totalement dépourvu d'anticorps. Cela démontre de la façon la plus nette que *la syphilis seule est impuissante à faire apparaître, dans le liquide céphalo-rachidien, les substances spécifiques de Wassermann et Plaut* [1].

Devant cette constatation, on est porté à faire intervenir, dans le processus dont il est question, d'autres facteurs en plus de l'infection syphilitique, en particulier l'existence d'une lésion syphilitique ou para-syphilitique des centres nerveux. Nos recherches nous ont montré que si la présence d'une telle lésion est effectivement nécessaire pour faire apparaître les anticorps dans le liquide cérébro-spinal, ses qualités et surtout son siège sont d'une importance de premier ordre à ce point de vue. Ainsi, chose surprenante au premier abord, il nous a été impossible de déceler des substances empêchantes dans le liquide céphalo-rachidien provenant de deux individus syphilitiques porteurs de lésions cérébrales en foyer. Voici d'ailleurs en quelques mots les observations auxquelles nous faisons allusion :

Mor..., 39 ans. Syphilis il y a 9 ans. Alcoolisme aigu, hallucinations, agitation. Contraction pupillaire, hémiplégie gauche avec exagération des reflexes remontant à 5 ans. Réformé pour syphilis cérébrale. *Réaction négative.*

1. Il serait intéressant de rechercher ces anticorps dans le liquide céphalo-rachidien des syphilitiques en pleine période secondaire.

Lelaid, 32 ans. Syphilis il y a 12 ans. Hémiplégie droite avec aphasie ; inégalité pupillaire, affaiblissement intellectuel. *Réaction négative.*

Ceci prouve l'insuffisance du facteur *syphilis* et du facteur *lésion cérébrale* dans la production des substances spécifiques contenues dans le liquide céphalo-rachidien. *Cette production est dominée par l'existence de lésions intéressant à la fois le cortex et les méninges et surtout par l'état avancé de ces lésions.* Nous avons vu, en effet, que le plus grand nombre de réactions positives a été fourni par les malades atteints de méningo-encéphalite chronique diffuse et que, parmi ces malades, ceux qui étaient le plus éprouvés par ces lésions ont donné les liquides céphalo-rachidiens les plus actifs.

Devant ces faits, nous sommes enclins à admettre que *la production des principes spécifiques contenus dans le liquide cérébro-spinal des paralytiques généraux doit être assurée par les éléments cellulaires qui prennent part à l'inflammation cortico-méningée qui caractérise la maladie de Bayle.* C'est un acte de sécrétion dont il s'agit, et en cela, nous nous rapprochons de l'opinion déjà émise à ce propos par Wassermann et Plaut. Néanmoins, il y a une nuance qui nous sépare de ces savants et cette nuance réside en ce que, pour nous, ce sont les leucocytes, en particulier les lymphocytes, qui assurent cette sécrétion, cependant que pour Wassermann et Plaut ce sont les centres nerveux eux-mêmes qui ont cette charge.

En résumé, *l'apparition des anticorps dans le liquide cérébro-spinal est, d'après nous, conditionnée par l'existence d'une syphilis plus ou moins ancienne et par la localisation cortico-méningée d'un processus inflammatoire syphlitique ou para-syphilitique intense et prolongé.*

V

Il nous reste à examiner un dernier point. C'est la question de savoir si les principes découverts par Wassermann et Plaut, dans le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux, sont ou non des *anticorps* dans le sens propre du mot. On sait que sous le nom d'anticorps on désigne des substances spécifiques obtenues par voie d'immunisation active (injection de microbes ou de produits microbiens) et qui agissent d'une façon *élective* sur les éléments microbiens ou autres qui ont servi à

la préparation de ces anticorps. De par cette définition, et dans le cas particulier de la syphilis, ces anticorps ne devraient donc porter leur action que sur le *Treponema pallidum* ou les extraits préparés à l'aide d'organes contenant ce tréponème. Les substances contenues dans le liquide céphalo-rachidien remplissent-t-elles ces conditions?

Nous avons soumis la question à une analyse détaillée, et nous avons recherché si le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux qui, comme on l'a vu, entrave l'hémolyse à des doses pour ainsi dire infinitésimales, lorsqu'il est mis en présence de l'*extrait de foie syphilitique*, en fait de même quand on remplace cet extrait par un *extrait de foie normal*. Nous nous sommes servi, pour préparer ce dernier extrait, d'un foie provenant d'un nouveau-né mort à la suite d'un accident survenu pendant l'accouchement et qui, issu à terme d'une primipare, ne montrait aucune trace de syphilis et n'avait aucun antécédent spécifique. Ce foie s'est montré d'ailleurs dépourvu de tréponèmes. Nos expériences, plusieurs fois répétées, nous ont montré *que l'extrait de foie normal, inactif lorsqu'il est employé seul, empêche l'hémolyse en présence du liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux, mais à des doses sensiblement supérieures aux doses empêchantes de l'extrait de foie syphilitique* (0,8 à 1,0 au lieu de 0,05 à 0,1, soit dix fois plus).

Quelles conclusions doit-on déduire de ces constatations, qui, soit dit en passant, sont en partie conformes à celles publiées antérieurement par Wassermann et Plaut? Si l'on ignorait que le foie normal employé par nous était sûrement dépourvu de tréponèmes, on concluerait, sans hésitation aucune, que la quantité d'antigènes syphilitiques (dérivés des tréponèmes) contenue dans ce foie est tout simplement inférieure à celle du foie spécifique et qu'entre les deux extraits il n'y a que des différences quantitatives et non qualitatives. Prenons un exemple plus concret. Admettons, pour faciliter la compréhension de notre façon de voir, que, dans l'extrait de foie, ce qui agit en présence du liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux pour empêcher la production de l'hémolyse, ce n'est pas l'antigène syphilitique, mais le glycogène. Or il est fort possible que le foie syphilitique soit plus riche en glycogène que le foie normal, d'où la différence quantitative con-

statée dans les expériences parallèles énoncées plus haut. Et ceci enlèverait le caractère d'anticorps syphilitique au principe actif contenu dans le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux, bien entendu sans diminuer pour cela l'importance de la réaction de Wassermann et Plaut, en tant que réaction particulière à la paralysie générale et au tabès.

Mais, contre cette objection, plaident plusieurs constatations recueillies au cours de nos recherches. Tout d'abord, il y a le fait que les substances empêchantes du liquide céphalo-rachidien perdent leur activité après un chauffage prolongé pendant 10 minutes à 70°-80°, c'est-à-dire dans des conditions qui assurent également l'anéantissement des anticorps bactériens (agglutinines et ambocepteurs). En outre, nous pourrions invoquer, en faveur de la parenté entre ces substances et les anticorps syphilitiques, l'existence d'une relation intime entre les antécédents spécifiques de nos paralytiques généraux avancés et la présence d'une réaction positive obtenue avec le liquide céphalo-rachidien chez ces malades. Quoi qu'il en soit, nous pensons que d'autres critériums sont nécessaires pour pouvoir affirmer, avec toute la certitude désirée, que les substances actives découvertes par Wassermann et Plaut sont véritablement des anticorps syphilitiques. Il faudra surtout s'assurer si ces principes agissent d'une façon spécifique sur les tréponèmes de Schaudinn et Hoffmann pour en amoindrir ou annihiler la virulence, cela à l'aide d'expériences faites sur des singes sensibles à l'infection syphilitique. C'est ce que nous nous proposons de faire comme suite aux recherches résumées dans le présent mémoire.

Sur le traitement de la rage par le radium.

Par le Dr A. CALABRESE

(Laboratoire de la deuxième clinique médicale de l'Université de Naples.)

RÉPONSE A M. LE PROFESSEUR TIZZONI

On sait que les émissions du radium sont de nature différente ; il y en a qui sont incapables de passer à travers le verre et le mica; on les considère comme des courants gazeux et on les appelle *émanations ;* d'autres, au contraire, passent facilement à travers le verre et le mica, on les appelle *radiations*.

Dans quatre notes successives parues du mois d'avril au mois de décembre 1905, MM. Tizzoni et Bongiovanni affirmaient que le virus rabique est détruit soit *in vitro*, soit chez les animaux expérimentalement infectés, par l'application du radium. Dans la plupart de leurs expériences, l'activité des échantillons de radium variait de 10.000 à 100.000 U. R. Le radium était appliqué soit renfermé dans un tube en verre fermé à la lampe, soit avec l'appareil d'Armet de Lisle qui est fermé antérieurement par une lamelle de mica : on éliminait donc dans les deux cas les émanations.

Les résultats positifs obtenus étaient dus par conséquent aux radiations, comme les auteurs eux-mêmes le déclarèrent de la façon la plus affirmative dans leur 3me note (*Gazz. degli Osped*, nº 127, 1905, p. 1.333) où ils disent textuellement : « Les émanations étant éliminées dans nos expériences, on ne pourrait pas leur attribuer l'action curative du radium. Ce qui détruit entièrement l'affirmation faite par Rehns dans une publication récente (mars 1905,) à savoir que la destruction *in vitro* du virus rabique au moyen du radium est due exclusivement aux émanations et non aux radiations ».

***

MM. Tizzoni et Bongiovanni, dans quatre communications, affirmaient que les applications du radium n'avaient jamais provoqué de lésions ni sur les paupières ni dans les différentes par-

ties de l'œil et ils se déclarèrent prêts à appliquer la méthode au traitement de la rage avec des échantillons de radium beaucoup plus actifs.

Dans la troisième communication, ils se disaient heureux de pouvoir annoncer que, grâce au ministre de l'Instruction publique, ils avaient obtenu du gouvernement les fonds nécessaires pour acheter un échantillon de radium de 5 millions de U. R., c'est-à-dire 10.000 francs.

Etant donné la nouveauté et la grande importance du sujet, j'ai voulu, après ces premières communications répéter les expériences qui étaient indiquées, et j'ai communiqué mes premiers résultats au congrès de Gênes (octobre 1905), et ensuite dans la *Riforma medica* (n° 2, 1906).

En employant des échantillons de radium de 10.000 et 100.000 U. R. en tube en verre soudé à la lampe, c'est-à dire en employant seulement les radiations, j'obtins toujours des résultats négatifs soit *in vitro*, soit chez des animaux infectés de rage. En appliquant le petit tube de radium de 100.000 U. R., directement sur l'œil des lapins, j'obtins la chute des cils, l'ulcération envahissante de la paupière, une conjonctivite muco-purulente, sans ulcération de la cornée.

Les recherches de Novi de Bologne et de Danysz et Viala à l'Institut Pasteur de Paris, confirmèrent mes résultats, c'est-à-dire l'inefficacité absolue du radium sur le virus rabique et la production de lésions plus ou moins graves des tissus par l'application directe du radium.

Dans un récent article (*Gazette d'Ospedali*, n° 63, 1906, et *Annales de l'Institut Pasteur*, n° 8, 25 août 1906), Tizzonni et Bongiovanni essayent de donner l'explication de la différence entre les résultats positifs de leurs recherches et les résultats négatifs de mes recherches, de celles de Danysz et Viala et de celles de Novi. Quant à l'action du radium sur le virus rabique *in vitro*, MM. Tizzoni et Bongiovanni attribuent nos insuccès à l'élimination, dans les expériences, des émanations ; eux-mêmes déclarent en effet que, contrairement à ce qu'ils croyaient avant, c'est-à-dire que les effets du radium étaient dus seulement aux radiations, depuis leurs dernières expériences ils s'étaient convaincus que les radiations n'exerçaient aucune influence. De cette façon, ils confirment ce que j'ai déjà

dit depuis le mois d'octobre 1905 et ce qu'avaient dit Rehns, Novi et Danysz, c'est-à-dire que les radiations du radium n'ont aucune action sur le virus rabique ou *in vitro*.

Ce qu'il y a d'étonnant, c'est que MM. Tizzoni et Bongiovanni aient pu obtenir des résultats positifs dans les expériences qui forment l'objet de leurs trois premières communications, lorsqu'eux aussi se servaient des radiations comme nous venons de le dire. En outre, ces auteurs confirment à présent l'efficacité des émanations reconnues par Rehns il y a un an et qu'ils avaient niée dans leur troisième communication (octobre 1905).

En vérité, j'ai dû déclarer que pour des raisons indépendantes de ma volonté je n'avais pu encore faire des expériences sur l'action des émanations du radium ; et c'est pourquoi je ne puis à ce sujet rien affirmer ou nier. On ne pourrait d'ailleurs pas appliquer les émanations au traitement de la rage chez l'homme, à cause de leur puissante action destructive sur les tissus.

Sur l'action curative du radium chez les animaux inoculés, Tizzoni et Bongiovanni maintiennent leur interprétation que, dans ce cas, le radium agit par les radiations, c'est-à-dire d'une façon différente qu'*in vitro ;* et ils expliquent les résultats négatifs que j'ai obtenus, par la différence de la méthode employée. En vérité, je crois avoir employé à peu près la même méthode que la leur.

En effet, dans leur troisième communication, ils disent :

1° Avoir appliqué le petit tube sur l'œil au moyen d'un petit godet en plomb, au fond duquel il était fixé de façon à se trouver à 1/2 centimètre de distance de la cornée ; ou bien 2° d'avoir appliqué l'appareil d'Armet de Lisle au moyen d'un capuchon percé d'un trou, dans lequel il était fixé avec quelques points et presque au contact de l'œil dont il restait seulement séparé par les paupières.

*
* *

Les deux méthodes que j'ai employées sont les suivantes :

1° L'échantillon de radium était fixé au moyen d'un soutien en face de l'œil du lapin, de façon que la distance ne dépassait pas 1/2 centimètre. Dans ce cas, l'insuccès ne peut être attribué

au fait de la dispersion des radiations, car le radium aurait pu agir plus faiblement dans ce cas, mais il aurait toujours déterminé quelque chose ; en outre, dans quelques expériences, j'ai employé un petit entonnoir en plomb que j'ai fait construire exprès et dans le centre duquel j'ai fixé le petit tube, en face l'œil du lapin. Même dans ce cas, le résultat fut négatif.

2° Le petit tube de radium était fixé à une gouttière de caoutchouc cousue à ses extrémités (bien entendu avec de la soie aseptique), à la peau (dans des points lointains de la paupière), de façon à ce que le petit tube ne fût séparé du bulbe oculaire que par les paupières que l'animal gardait fermées par action reflexe. Dans ce second cas, MM. Tizzoni et Bongiovanni disent que les paupières tombaient rapidement en nécrose et que la cornée devenait fortement opaque.

Or, dans mon travail, j'ai fait remarquer que les lésions produites par le radium sur les tissus ne se manifestent jamais vite avec un échantillon de 100.000 U. R. mais seulement 8 à 10 jours après, que la radio-darmite provoquée par les rayons Rœntgen ne se manifeste pas de suite, mais 1-2 semaines après.

Les lésions que j'ai rencontrées, c'est-à-dire chute des cils, ulcérations envahissantes des paupières, mais sans ulcération de la cornée, étaient certainement dues au radium et se manifestaient, chez les lapins, seulement 8-10 jours plus tard ; je n'ai pu les observer (parce qu'elles n'eurent pas le temps de se produire) chez les lapins trépanés, qui moururent en 6-7 jours, bien que soumis au traitement par le radium et que l'injection du virus ait été faite *secundum artem* sous la duremère et non dans la substance cérébrale.

On comprend donc que ces lésions ne pouvaient avoir aucune influence sur l'efficacité du radium qui, d'après les expériences des auteurs, détruit le virus après une application de huit heures à peine.

Et, d'autre part, ces lésions indiquent bien que le radium agissait sur les parties avec lesquelles il était en contact.

Enfin, pour ce qui concerne l'innocuité du radium, Tizzoni et Bongiovanni affirment à présent que son application sur l'œil n'est pas toujours inoffensive ; eux-mêmes ont obtenu les mêmes lésions observées par moi et par les autres auteurs ! seule-

ment avec des échantillons de radium supérieur à 100,000 U. R.

Par conséquent, les mêmes auteurs se sont convaincus qu'on ne pouvait appliquer, au traitement de la rage chez l'homme, des échantillons de radium d'une activité supérieure et encore moins l'échantillon de 5 millions de U. R.



Cela étant donné, je pense en vérité que le traitement de la rage chez l'homme, par l'application du radium sur l'œil, n'a que peu de chances de succès.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE MARS 1907 N° 3

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

MALADIE DU SOMMEIL

Cinq nouveaux cas de trypanosomiase chez les blancs.

ESSAIS DE TRAITEMENT

Par M. Louis MARTIN

Dans l'espace d'une année, nous avons eu l'occasion d'étudier, à l'hôpital Pasteur, cinq nouveaux cas de maladie du sommeil chez des blancs.

Nous avons déjà montré dans un premier travail, publié en collaboration avec M. J. Girard [1], que cette maladie était loin d'être rare chez les blancs, comme on l'avait cru si longtemps.

Depuis cette publication, à Paris même, M. Sicard [2] a pu observer un nouveau cas et M. Nattan-Larier [3] en a étudié deux; ce qui fait, avec nos cinq malades, huit nouvelles observations. En Belgique et en Angleterre, d'autres malades ont été observés et traités. L'on pourrait, actuellement, réunir facilement plus de trente observations chez les blancs, étudiées dans ces dernières années.

Des cinq malades entrés à l'hôpital Pasteur, un seul est mort. Les autres sont encore en traitement et ont été très améliorés; mais comme les cas sont assez dissemblables, nous allons les étudier d'abord séparément.

1. *Bulletin médical*, 29 avril 1905.
2. *Société médicale des hôpitaux*, 1905.
3. *Société médicale des hôpitaux*, 1906.

1re *Observation.* — Paul Jean-Marie V., âgé de 28 ans, sous-lieutenant d'infanterie coloniale, a été envoyé à l'hôpital Pasteur par M. le Dr Mathis, médecin des troupes coloniales.

Parti aux colonies comme sous-officier le 1er juin 1903, le lieutenant V. y demeura jusqu'à la fin novembre 1904, soit 18 mois.

Il séjourna à Fort-Lamy et voyagea dans les vallées du Chari et de l'Oubanghi.

Le 19 septembre 1906, il entre à l'hôpital Pasteur. Il est tellement malade qu'il est impossible de reconstituer son histoire; sa famille nous donne les quelques renseignements que voici :

A son retour des colonies, il se prépare à l'École Saint-Maixent, où il est reçu le 1er avril 1905. Il peut suivre l'école, mais avec difficulté; car il lui est impossible de travailler d'une façon régulière et suivie.

Le 1er avril 1906, il est nommé sous-lieutenant au 6e colonial à Brest où, après quelques mois de séjour, il est admis à l'hôpital et finalement renvoyé dans sa famille.

Depuis son retour des colonies, il reste deux ans et demi en France, et personne jusqu'à la fin n'a pensé à la maladie du sommeil; son frère, sergent dans l'infanterie coloniale, explique le cas au Dr Mathis qui soupçonne la vérité et l'envoie à l'hôpital Pasteur le 19 septembre 1906.

Cette histoire a dû être celle de bien des coloniaux qui ont été catalogués « anémie » et chez lesquels on ne pouvait porter un autre diagnostic; car pour caractériser la maladie du sommeil, il fallait connaître le trypanosome, savoir le chercher et le trouver, ce qui, même aujourd'hui, n'est pas toujours facile.

Un autre point intéressant est le suivant : V. reste deux ans en France avant de présenter des symptômes qui l'obligent à s'arrêter et ce n'est que deux ans et demi après son retour qu'il meurt de maladie du sommeil. Cette longue période d'incubation doit être signalée. Toutefois ce n'est pas un fait nouveau, car Guérin [1], dans sa thèse en 1869, a indiqué que les nègres venus à la Martinique succombaient longtemps après leur départ de l'Afrique : il en cite plusieurs qui sont morts cinq ans après de maladie du sommeil authentique. L'observation de la malade qui a succombé sept ans après son départ de l'Afrique n'est pas

1. *Thèse de doctorat.* Paris, 1869.

aussi nette que les précédentes; il n'est pas absolument prouvé, par les symptômes et par la marche de la maladie, qu'elle a bien succombé à la maladie du sommeil.

Le malade, à son arrivée, est aussitôt examiné; le sang centrifugé ne contient pas de trypanosomes, mais il en existe dans le liquide céphalo-rachidien.

A l'examen clinique :

On trouve le malade somnolent, presque comateux; il est très amaigri et présente deux escarres sacrées de chaque côté de la ligne médiane.

La peau ne présente pas d'éruption, mais le malade a de fortes démangeaisons; de plus, il a par moments des sueurs très abondantes.

Quand il peut répondre, il accuse une forte douleur dans les pieds qui sont œdématiés.

Les ganglions de l'aisselle et de l'aine sont augmentés de volume et durs des deux côtés.

Pendant 4 jours, il reste à l'hôpital presque toujours somnolent, couché sur l'un ou l'autre côté, la bouche ouverte laissant couler continuellement de la salive.

L'avant-dernier jour, il a pendant la nuit une crise épileptiforme, de la contracture des mâchoires, des vomissements bilieux.

Le dernier jour, il est dans le coma; ses extrémités sont cyanosées, ses yeux injectés, les muscles des lèvres et des sterno-cléido-mastoïdiens ont des tremblements convulsifs ; tout le corps est recouvert de sueurs abondantes, il a des selles involontaires.

La respiration, régulière jusqu'à midi, s'accélère, devient très rapide, et le malade meurt le 25 septembre 1906 à 9 heures du soir.

Pendant son séjour, la température a évolué d'abord entre 37° et 38°, tandis que le pouls était à 120; les derniers jours, la température s'élève aux environs de 39° et le pouls monte à 140. Ce malade a donc présenté le symptôme, si fréquent dans cette affection, d'un pouls beaucoup plus rapide que ne le comporte la température.

Les urines du malade contenaient des traces d'albumine.

Le liquide céphalo-rachidien chauffé est devenu à peine louche.

Malgré la gravité du cas, nous avons injecté sous la peau du malade, dès le surlendemain de son entrée, 50 centigrammes d'atoxyl : il n'y a eu ni accident ni amélioration.

A l'autopsie, M. Salimbeni a noté : une légère lepto-méningite chronique, de l'hyperhémie de la pie-mère, une légère augmentation du liquide céphalo-rachidien dans les ventricules latéraux et dans les espaces sous-arachnoïdiens et un peu d'œdème cérébral.

Il y a en plus de la broncho-pneumonie au lobe supérieur à droite; à droite et à gauche, il y a à la base de l'engoûment hypostatique.

La rate est tuméfiée; le myocarde est dégénéré; les reins sont atteints de néphrite parenchymateuse; le foie a de la dégénérescence graisseuse; la muqueuse vésicale est parsemée d'hémorragies punctiformes; les ganglions de l'aine et de l'aisselle des deux côtés sont engorgés.

Le sang et le liquide céphalo-rachidien ensemencés en bouillon ne donnent pas de culture.

A l'examen direct du liquide céphalo-rachidien, on trouve sous le microscope deux trypanosomes à peine mobiles.

Dans le sang on ne trouve rien.

Le sang et le liquide céphalo-rachidien inoculés dans le péritoine de rats et de cobayes n'ont pas infecté les animaux, soit parce que l'autopsie fut faite 24 heures après la mort, soit par suite de l'influence de l'atoxyl[1].

* * *

2e *Observation*. — Aloïs J., 31 ans. Missionnaire du Saint-Esprit, envoyé par le Dr Coffin de Paris.

Ce malade a séjourné dix ans aux colonies, les cinq dernières années au Congo français, dans la vallée de l'Alima; il a eu du paludisme et deux bilieuses hématuriques, la dernière au mois de mars 1905; c'est à partir de cette bilieuse que tous les symptômes se sont établis et accentués.

Il souffre depuis une année environ, les premiers malaises ont été : fatigue générale, douleurs dans les jambes et les pieds, essoufflements et palpitations de cœur.

Il est en France depuis 5 mois. Durant ce temps, il a eu

1. L'examen histologique sera publié ultérieurement.

2 accès de fièvre; le dernier s'est terminé par une suppuration de l'oreille.

Le Dr Coffin, avant de porter un diagnostic, voulut s'assurer que le malade n'avait pas de trypanosomes et nous l'envoya.

A son arrivée, le 25 avril 1906, le malade est très anémié; il a la figure pâle et bouffie; il marche difficilement et tout mouvement vif amène de l'essoufflement; il a l'aspect d'un cardiaque à une période avancée de la maladie. Lorsqu'on l'interroge, il hésite à répondre comme s'il entendait mal ou comme s'il ne comprenait pas.

Lorsqu'on l'examine, ce qui frappe surtout, c'est l'œdème des jambes et la bouffissure de la face; en plus tous les tissus paraissent infiltrés; il n'existe cependant pas d'ascite.

Le foie et la rate sont augmentés de volume.

Le cœur est volumineux; pas de bruits anormaux aux orifices, les bruits sont sourds, le premier temps est parfois dédoublé, bruit de galop par moments. A l'orifice aortique, le second temps est claqué.

Rien du côté de la peau : ni rougeur ni démangeaisons.

Tous les ganglions sont augmentés de volume, mais surtout les ganglions des aines et des aisselles.

La température est voisine de 37° et le pouls bat cependant 110 fois par minute.

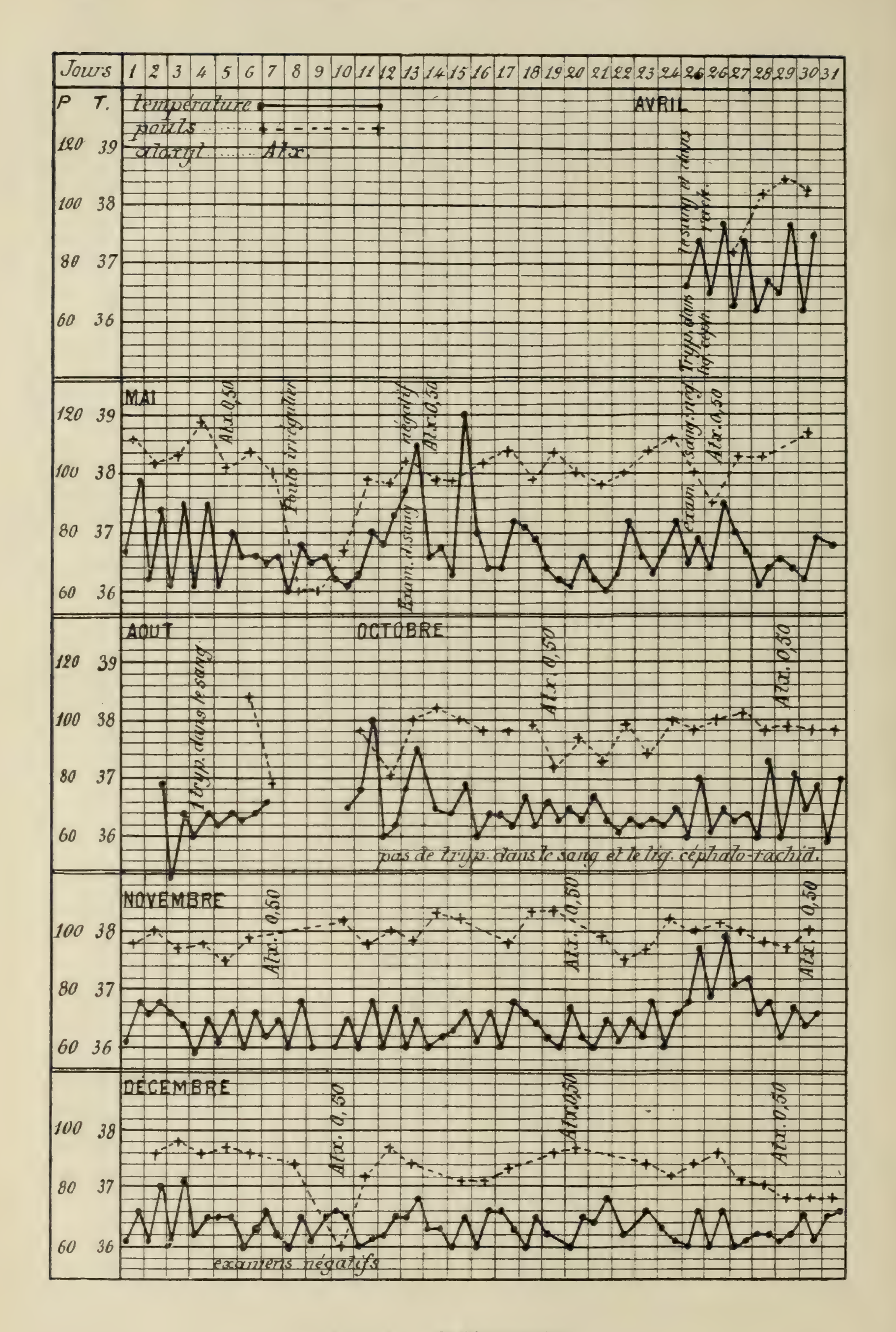
Enfin ce qui attire surtout l'attention, c'est une suppuration de l'oreille qui est très abondante et persiste ainsi jusqu'à la fin de mai.

Les urines sont claires et assez abondantes; il y a eu parfois des traces d'albumine.

En résumé le malade a une hypertrophie cardiaque, mais cette hypertrophie est-elle causée par une trypanosomiase ? Nul ne pourrait le dire; car les seuls symptômes de cette maladie qu'on trouve chez ce malade sont : l'engorgement ganglionnaire, la dissociation du pouls et de la température, l'œdème douloureux des pieds.

Cependant, à l'examen du sang centrifugé, on trouve des trypanosomes et de filaires, et on en trouve aussi dans le liquide céphalo-rachidien; ce liquide se trouble manifestement à la chaleur.

Le sang est ensemmencé : le bouillon reste stérile.



Aloïs J. — 2e Observation.

Le 5 mai 1906, le malade reçoit une première injection de $0^{gr},50$ d'atoxyl, qui paraît bien supportée : il n'y a pas de diarrhée, pas de vomissements. Mais 3 jours après l'injection, le pouls, qui depuis l'entrée du malade était petit, rapide, battant 100 à 110 fois, tombe à 60, avec irrégularité, battant 2 blanches, 2 noires, 3 blanches, 2 noires, 2 blanches, 3 noires ; le pouls devient petit, à peine perceptible, et on est obligé de donner de la caféine et de la spartéine. Cet état dure trois jours [1].

Onze jours après la première injection, on donne 0,50 d'atoxyl.

Le malade s'améliore assez rapidement.

La température reste au voisinage de 37°, mais le pouls est à 100-110.

Les ganglions diminuent de volume.

L'œdème des jambes persiste, mais diminue.

Il n'a plus été possible de trouver de trypanosomes dans le sang centrifugé.

Le malade retourne à la maison-mère de la communauté et il continue des injections d'atoxyl, 0,50 tous les 15 jours.

Atteint de broncho-pneumonie il est soigné par le Dr Coffin, qui suspend l'atoxyl pendant sa maladie ; il est très malade, mais revient à la santé et entre pour *la deuxième fois* à l'hôpital Pasteur, le 16 août 1906.

La dernière injection d'atoxyl remontait au 7 juillet, soit à 6 semaines, et cependant le sang, examiné par plusieurs personnes après centrifugation, ne laisse voir qu'un seul trypanosome; le liquide céphalo-rachidien ne contient pas de trypanosomes, et, à la chaleur, ce liquide se trouble très peu.

Le malade quitte encore l'hôpital pour revenir le 10 octobre, assez fatigué et très oppressé.

Tout en continuant à lui injecter tous les 10 jours 0,50 d'atoxyl, on le traite comme un cardiaque, en alternant la théobromine, la digitale, la spartéine, en usant du régime déchloruré ou du régime lacté. Le malade baisse de poids; de

1. On a vu, par l'autopsie du malade 1, que le muscle cardiaque est dégénéré. Or, M. Vaquez, à la *Société Médicale des Hôpitaux*, janvier 1907, a montré que des malades atteints de myocardite ont des pouls lents et irréguliers; nous pensons que chez notre malade, c'est surtout la myocardite qu'il faut incriminer.

66kg,500, il descend à 58 kilos et se maintient finalement à 60 kilos. Il est très amélioré et pendant les mois de janvier et février 1907, sa température ne dépasse pas 37 et son pouls reste entre 80 et 90. Jusqu'à ce jour (4 mars) son état demeure satisfaisant.

Ce qui est intéressant dans cette observation, c'est que, malgré un très mauvais état général, malgré que l'atoxyl ait été administré à faible dose, 0,50, et à intervalles espacés (tous les 15 jours), ce malade s'est amélioré et les trypanosomes ont disparu du sang et du liquide céphalo-rachidien. Ces doses étaient toutefois trop faibles, car les œdèmes persistaient et l'état général ne s'améliorait pas ; aussi, lors de son troisième séjour, nous avons rapproché les injections d'atoxyl, sans augmenter la dose : nous avons donné tous les 10 jours 0,50 d'atoxyl et l'état du malade s'est amélioré très rapidement.

Ce malade a eu des suppurations de l'oreille; sont-elles dues au trypanosome? Nous ne le pensons pas et croyons qu'il est préférable de penser aux filaires ou plus simplement à un otite par infection, quoique dans les antécédents du malade, rien ne nous autorise à émettre cette dernière hypothèse.

Peut-on mettre les complications cardiaques sur le compte de la trypanosomiase? Étant donnée la grande amélioration du malade à la suite du traitement, nous inclinons fort à accuser les trypanosomes; ce qui paraît certain, c'est que ce malade est actuellement porteur d'une lésion myocardique bien établie et qu'il n'est plus possible de le rétablir complètement; malgré qu'il soit dans toute la force de l'âge (32 ans), il est difficile de songer à le renvoyer aux colonies, tandis qu'en France, avec des soins, il pourra encore vivre et être utile.

*
* *

3e *Observation.* — Joseph B., 33 ans. Missionnaire des Pères du Saint-Esprit. Malade envoyé par le Dr Coffin de Paris.

Parti de Bordeaux le 10 septembre 1898, il arrivait à Brazzaville le 13 octobre, et, quinze jours après, gagnait la mission de Saint-Paul-des-Rapides, à Bangui.

Pendant les trois premières années, il fut très éprouvé par les fièvres qui revenaient à périodes fixes, d'abord tous les 15 jours et ensuite toutes les trois semaines, puis tous les mois.

Au bout de la deuxième année il eut une « bilieuse hématurique » qui le rendit très malade. A partir de ce moment, les fièvres devinrent plus rares; toutefois il ne passa jamais 3 mois sans quelques jours de fièvre. La troisième année, nouvelle bilieuse qui l'oblige à garder le lit dix jours. Puis sa santé va en s'améliorant. Il est mieux acclimaté. Il a encore de temps en temps des fièvres, mais pas très fortes.

Au bout de la 7e année, fin juillet 1905, les fièvres reparaissent et deviennent fréquentes; au commencement d'août, il entreprend dans l'intérieur un voyage qu'il doit interrompre; il est obligé par la fièvre de rentrer à Bangui. Une nouvelle bilieuse (la 3e) se déclare et dure 3 semaines. La fièvre est plus tenace que de coutume. A partir de cette époque, la fièvre fait son apparition presque tous les soirs, vers les 4 heures. En même temps se produit une poussée furonculeuse qui ne se termine qu'au mois de février 1906.

Vers le mois d'octobre 1905, le malade sent des fourmillements dans les pieds; il croit toujours avoir des cailloux dans les souliers, il lui est impossible de rester longtemps debout. A partir de ce moment, ses forces diminuent, les ganglions du cou enflent, sans le faire souffrir cependant. Il en est ainsi jusqu'au mois de décembre, les fièvres ne cessent pas et le mal des pieds augmente; cet état est attribué à l'anémie.

Après Noël, le malade descend au poste de Libenghé (poste belge). A peine a-t-il débarqué que le Dr Rodhain remarque ses ganglions du cou et se demande s'il n'aurait pas la maladie du sommeil. Dès le lendemain de son arrivée, il lui prend du sang au doigt. Il découvre 3 trypanosomes. Pendant 4 jours, il recommence l'examen et chaque fois il trouve des trypanosomes.

Le diagnostic était dès lors établi. Immédiatement le Dr Rodhain décidait le malade à rentrer en France et, en attendant, ordonnait de la liqueur de Fowler, le seul remède qu'on avait alors en Afrique.

Réellement très malade depuis le mois d'août 1905, le missionnaire quittait Brazzaville le 15 janvier, et arrivait en France le 18 mars, après avoir fait naufrage et avoir été débarqué d'un paquebot comme suspect de maladie contagieuse.

Le 21 mars 1906, quand Joseph B. se présente à l'hôpital Pasteur, il est très fatigué, marche difficilement, le corps plié en deux, et ne peut monter quelques marches sans être soutenu. Ce qui frappe, c'est sa pâleur et son amaigrissement; sous sa peau trop lâche, en arrière, à la nuque, de chaque côté de la ligne médiane, deux ganglions font saillie : celui de gauche est le plus développé et de la grosseur d'une noisette; à l'examen, on trouve tous les autres ganglions volumineux.

On retrouve chez lui l'existence des principaux symptômes classiques : fatigue générale, douleurs dans les pieds, œdème des jambes, transpirations abondantes; il n'y a pas de rougeurs, pas de démangeaisons.

Il se plaint d'accès de fièvre survenant tous les jours, et quand la température tombe, le pouls reste à 110-120.

Le malade a depuis quelque temps des épistaxis qui se sont renouvelées presque chaque jour dans les premiers temps de son séjour à l'hôpital.

A l'examen, on trouve un gros foie, une grosse rate.

Il n'y a pas d'albumine dans les urines.

L'examen du sang, pratiqué par M. Besredka, donne :

Globules rouges....	4.060.000
Globules blancs	12.700
dont	
Polynucléaires.....................	51 0/0
Mononucléaires....................	40 0/0

Dans les polynucléaires, il y a 12 0/0 d'éosinophiles.

Comme le docteur Rodhain, nous trouvons des trypanosomes dans les ganglions, dans le sang et dans le liquide céphalo-rachidien.

Sur les indications de M. Laveran, ce malade est soumis au traitement mixte : arsenic et trypanroth.

Du 25 mars au 28 mai 1906, il reçoit sous la peau, en différentes injections, 34 c. c. de solution arsenicale représentant 155 milligrammes d'acide arsénieux et de 2gr,60 de trypanroth.

Ces injections sont bien supportées et le malade devient après 5 jours uniformément rouge.

Le malade, tout en restant très faible, s'améliore cependant

et les ganglions diminuent de volume, les accès de fièvre s'espacent mais persistent, enfin les épistaxis reviennent presque chaque jour. Du reste le malade se plaint fréquemment d'une douleur dans le nez et dans le front.

Le 19 avril, il a un zona thoracique.

Le 30 avril, il accuse une violente douleur dans le nez et les sinus, puis le lendemain une très forte douleur dans la gorge, le tout accompagné d'une grande fièvre : la température oscille entre 38° et 40°. Le malade est vu par le Dr Collinet, qui constate une ulcération sur les cornets, pense à une sinusite et ordonne des lavages du nez.

A partir du 1er mai, le malade a manifestement un érysipèle de la face qu'on ne peut diagnostiquer que par le bourrelet qui circonscrit la tuméfaction de la plaque érysipélateuse ; car le malade étant tout rouge par le fait du trypanroth, il est impossible de se baser sur la rougeur de la peau pour faire le diagnostic.

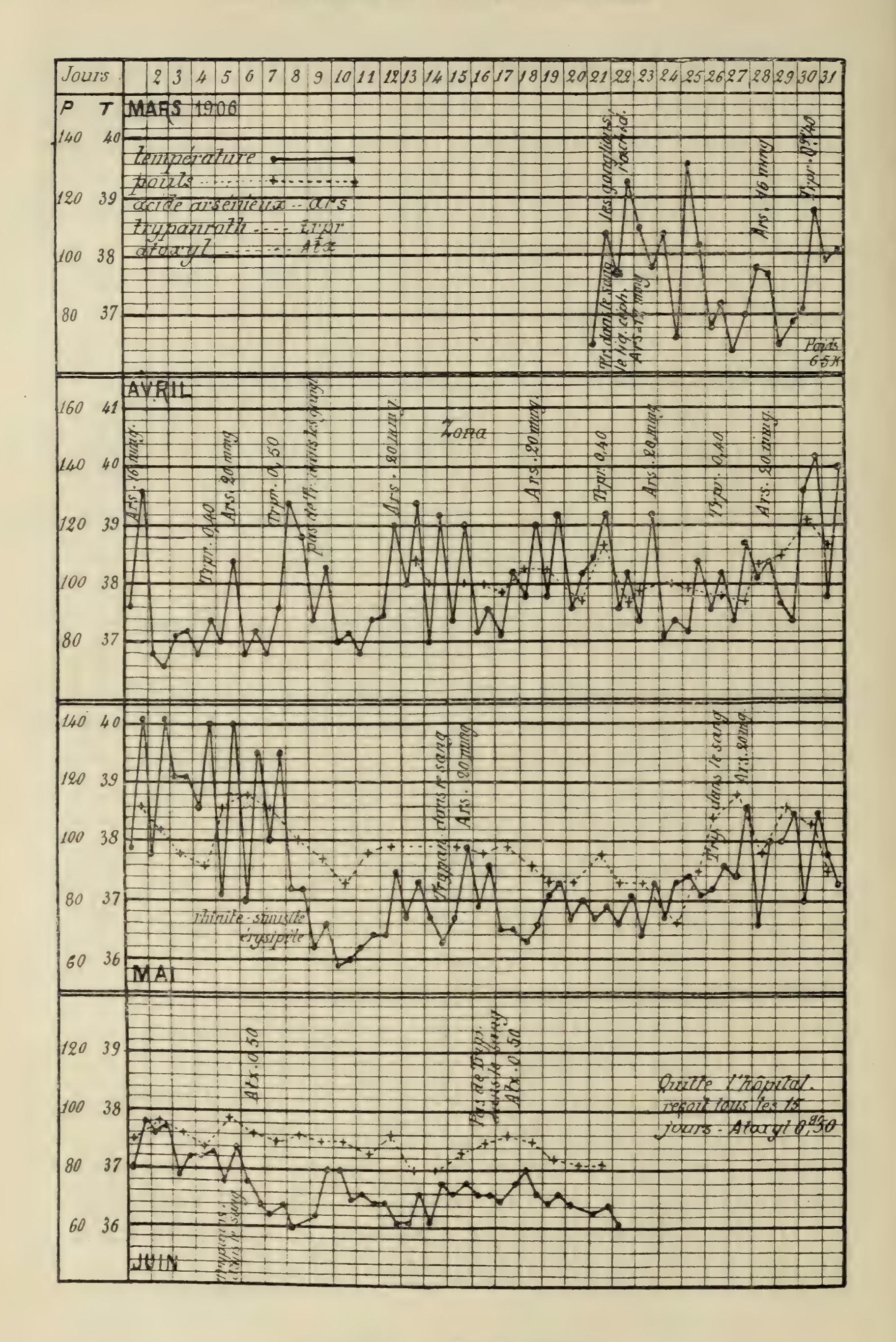
Nous avons insisté sur l'évolution de cette rhino-sinusite avec érysipèle consécutif, car nous pensons que cette lésion était ancienne et causait pour une grande part la fièvre du malade. Ce qui est bien certain, c'est qu'après la guérison de son érysipèle et de sa rhinite, sous l'influence des lavages prescrits par le Dr Collinet, on n'a plus revu d'épistaxis et les accès de fièvre ont été moins importants et moins fréquents.

Faut-il attribuer cette lésion à la trypanosomiase ?

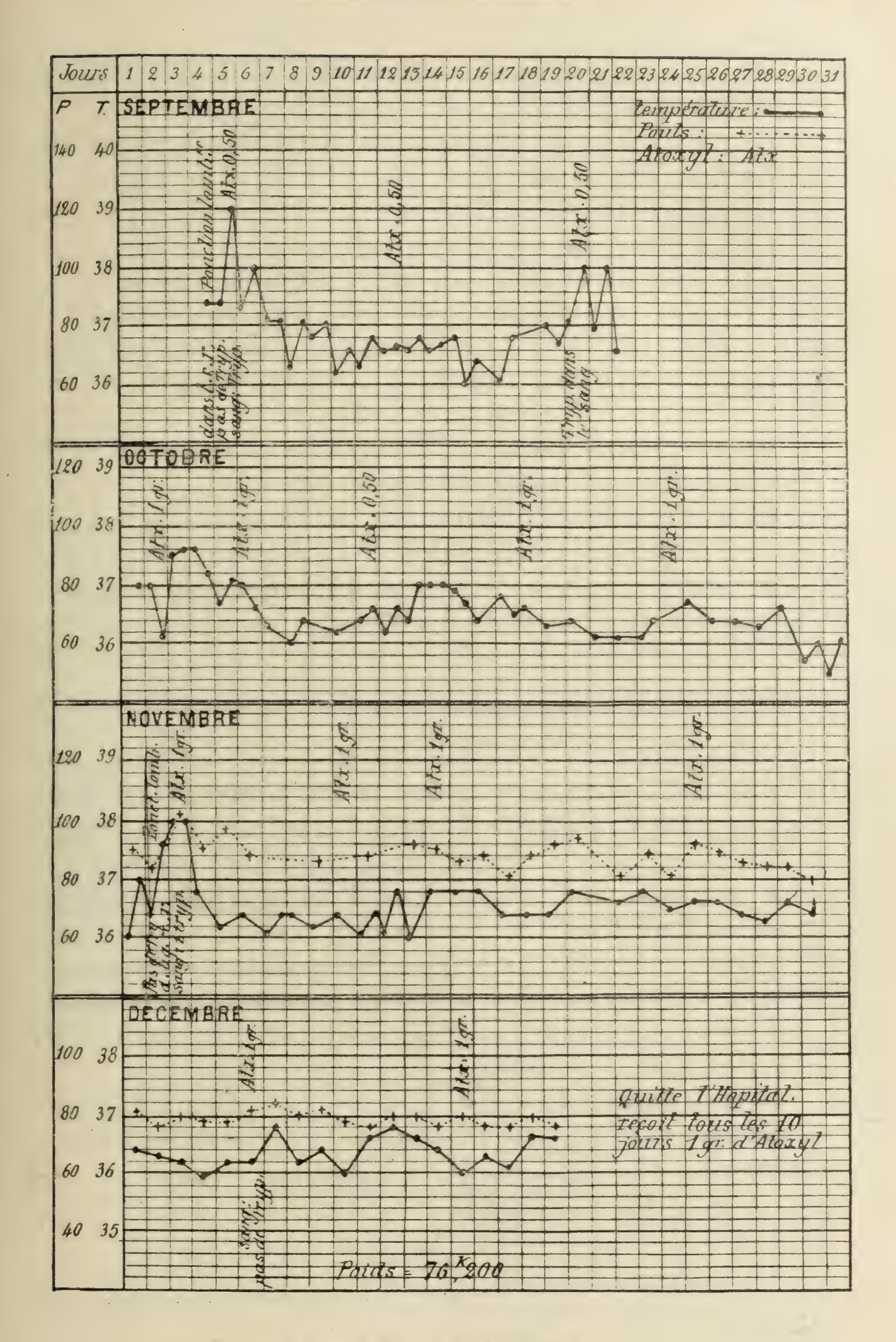
C'est possible ; mais il ne faut pas oublier que le malade est aussi porteur de filaires, et la filaire peut donner de pareilles lésions.

A voir la courbe thermique de notre malade, on devait porter un pronostic des plus graves [1], si vraiment la fièvre avait été la conséquence de l'infection trypanosomique. Si la fièvre, au contraire, était liée à l'état local de la muqueuse nasale, on pouvait espérer une amélioration. Nous pensons que la lésion locale était la cause principale de la fièvre et que par suite notre observation, tout en présentant un très réel intérêt, ne peut pas nous fixer d'une façon absolue sur l'action des médications dans les cas graves.

1. Le Dr Broden, qui a vu notre courbe, a jugé que, d'après les autres cas qu'il a étudiés, ce malade aurait dû mourir en trois mois.



Joseph B... — 3e observation.



Joseph B... — 3e observation.

Quoi qu'il en soit, le malade guérit de sa lésion locale et aussitôt son état général s'améliora, mais les trypanosomes ne disparurent pas du sang.

On cessa le trypanroth, car le malade pendant son érysipèle présenta de l'albuminurie, et l'albumine persista quinze jours encore ; or on sait qu'il ne faut pas employer le trypanroth quand le malade a de l'albuminurie.

Toutefois comme les trypanosomes persistaient dans le sang, tandis qu'ils avaient disparu rapidement chez Aloïs J. auquel on avait injecté de l'atoxyl, on remplaça l'acide arsénieux par l'atoxyl, le 5 juin 1906. Les trypanosomes disparurent aussitôt et le malade partit à la campagne le 22 juin.

Pendant son absence qui dura jusqu'au 4 septembre, le malade reçut tous les 15 jours 0,50 d'atoxyl.

La dose était insuffisante, car, à son retour, il avait de nouveau des trypanosomes dans le sang, et malgré de nouvelles doses d'atoxyl, les trypanosomes ont persisté dans le sang, pendant les mois d'octobre et de novembre; on a rapproché et augmenté les doses d'atoxyl et le malade a quitté l'hôpital le 19 décembre, bien portant et n'ayant plus de trypanosomes dans le sang.

Fait curieux : tandis que les trypanosomes persistaient dans le sang, en n'en trouvait plus dans le liquide céphalo-rachidien à partir du mois d'octobre. D'après toutes les observations de Kopke, c'est le contraire qui se passe d'habitude: les trypanosomes disparaissent du sang et persistent dans le liquide céphalo-rachidien. Remarquons toutefois que ce liquide, lors de l'entrée du malade, contenait des trypanosomes et une assez grande quantité d'albumine ; aux dernières ponctions, alors que le trypanosome avait disparu, il n'y avait plus d'albumine dans le liquide céphalo-rachidien.

Au mois de février, Joseph B. est revenu à l'hôpital Pasteur en très bonne santé ; pendant son absence il a pu faire plusieurs conférences et des marches de 12 kilomètres. Son état est à ce jour (4 mars) très satisfaisant.

***

4e *Observation*. — Pierre C., âgé de 28 ans, missionnaire du Saint-Esprit.

Ce malade a été envoyé à l'Institut Pasteur par le docteur Allain, chef du service de santé à Brazzaville.

La lettre annonçant le malade contenait en même temps l'observation suivante :

UN CAS DE TRYPANOSOMIASE CHEZ UN EUROPÉEN

MISSION DU HAUT-LOGONE. TRYPANOSOMIASE HUMAINE (EUROPÉEN).

Observation prise à Brazzaville le 25 septembre 1906, par les docteurs J. Kérandel et Heckenroth.

Pierre C., né à Brest, âgé de 28 ans, est au Congo depuis vingt-cinq mois. C'est son premier séjour aux colonies.

Il a été envoyé directement de France à la mission Saint-François (Boundji), sur l'Alima, en passant par Uratadi et Brazzaville, où il a séjourné trois semaines. Le trajet de cette dernière localité à la mission Saint-François s'est effectué par la voie fluviale du Congo et de l'Alima. Sur une partie de ce parcours, Basse-Alima-Congo, la Glossinia palpalis et les taons sont très nombreux, comme nous avons pu le constater nous-mêmes.

La mission Saint-François est installée sur les bords sablonneux de l'Alima à vingt mètres de la rive. L'arrière-plan du terrain est constitué par des plaines herbeuses et des forêts. Il existerait dans la région un grand nombre de moustiques, de taons et de mouches piquantes analogues à des Glossines que nous avons montrées au malade et qu'il a parfaitement reconnues. Ces mouches se retrouveraient jusqu'à un kilomètre et demi du fleuve.

La région serait malsaine et les pères auraient des accès de fièvre assez fréquents ; toutefois leur état général est satisfaisant. Les enfants indigènes de la mission se portent bien ; un décès s'est récemment produit par suite de maladie du sommeil.

Le frère, exerçant la profession de menuisier, travaillait le plus souvent dehors, dans le courant de la journée, soit en forêt pour abattre des arbres, soit près de la mission pour le montage des cases et l'entretien des jardins. Son alimentation se composait de gibier (bœuf sauvage, antilopes, etc.), de poisson, de quelques légumes frais, de manioc et de conserves, L'eau de boisson était prise directement au fleuve et n'était pas filtrée : elle était souvent sale et mauvaise au goût.

Antécédents héréditaires. — Rien à signaler.

Antécédents personnels. — Ostéo-myélite dans le jeune âge, cicatrices à la jambe gauche.

Histoire de la maladie. — Dès son débarquement à Uratadi, en juillet 1904, Pierre C. aurait eu de la fièvre pendant trois jours. Puis il s'est bien porté pendant vingt et un mois. Il prenait quelquefois de la quinine, environ 0gr,25 à 0gr,30 tous les huit jours.

Le début de la maladie actuelle semble remonter à quatre mois. A cette époque, le frère aurait d'abord ressenti une sorte de gonflement

épigastrique, accompagné d'oppression, puis de tuméfactions douloureuses et passagères localisées soit aux jambes, soit aux avant-bras. En même temps survient de la fièvre apparaissant chaque soir pendant une semaine, mais pas de céphalalgie, de courbature ni de vertiges. Le malade se sent mieux pendant la journée. Il éprouve toutefois de la lassitude. La fièvre a paru céder à la quinine; mais les autres phénomènes ont persisté. Le sommeil est plus profond et plus prolongé la nuit, et le besoin de la sieste se fait sentir plus impérieux.

Depuis trois mois que le malade est à Brazzaville, la température monterait assez souvent le soir à 38°, 38°,5.

État actuel. — Aujourd'hui le frère a les traits tirés, le facies terreux et un état anémique très accusé par la décoloration des téguments et la pâleur des conjonctives et des muqueuses. Il répond assez bien aux questions qu'on lui pose, mais seulement après un moment de réflexion; la paresse intellectuelle est évidente. Il est courbé et traîne légèrement en marchant. D'après les pères de la mission de Brazzaville, notre malade a toujours été d'un naturel apathique quoique bon travailleur.

Deux symptômes nous frappent : des taches rouges et des *œdèmes* disséminés sur les diverses parties du corps.

Les paupières paraissent tuméfiées; mais un examen plus attentif nous montre que l'œdème n'intéresse que le rebord orbitaire, formant ainsi un bourrelet circulaire très net autour de la cavité de l'orbite. A la face, la tuméfaction s'étend aux pommettes et à la lèvre supérieure. Aux pieds et aux jambes, l'œdème est très marqué et dur à la pression avec une teinte générale violacée. Aux bras existent d'autres placards d'œdèmes analogues aux « tumeurs de Calabar ».

Les taches rouges sont disposées en arcs de cercle, formant des bandes larges de un à cinq centimètres, et dans les intervalles la peau est normale. Par cette disposition, le tronc du malade présente un aspect léopardé. Au niveau des taches, les veinules cutanées sont très dilatées, variqueuses, rouges violacées et s'aperçoivent très nettement disposées en rayons dans les arcs de cercle auxquelles elles appartiennent. Le derme est épaissi, induré et très légèrement douloureux à la pression. Ces indurations cutanées se déplacent fréquemment dans les diverses parties du corps.

Les taches rouges sont plus foncées, légèrement violacées, et particulièrement apparentes au niveau du thorax, tandis qu'à l'abdomen la rougeur est beaucoup moins accusée. La différence des teintes est nettement limitée par le rebord des fausses côtes.

A la région dorsale, aux cuisses et aux bras, les taches sont moins nombreuses et moins colorées.

Appareil lymphatique. — Malgré la palpation la plus minutieuse, nous ne trouvons aucun ganglion engorgé dans les diverses groupes cervicaux.

Dans les creux auxiliaires existe à droite et à gauche un ganglion gros comme une petite noisette.

Aux aines se trouvent : à gauche, quatre ganglions de la grosseur d'une amande, et, à droite, quatre ganglions un peu moins gros.

Les ganglions cruraux et épitrochléens ne sont pas hypertrophiés.

Appareil respiratoire. — Rien d'anormal.

Appareil digestif. — L'appétit est conservé : nous n'avons constaté rien d'anormal du côté du tube digestif.

Le foie n'est pas douloureux à la pression et ne dépasse pas le rebord des fausses côtes.

Les urines ne contiennent pas d'albumine. Les mictions ne sont pas plus fréquentes que d'habitude.

Appareil circulatoire. — Le pouls et les bruits du cœur paraissent normaux. Pas d' ypertrophie cardiaque.

La rate n'est pas augmentée de volume.

Système nerveux. — La sensibilité au chaud, au froid et à la piqûre est normale sur les placards d'induration et sur les parties saines.

Le réflexe rotulien est diminué à droite et exagéré à gauche.

Des réflexes abdominaux, celui du tendon d'Achille et celui du poignet sont normaux.

Les pupilles réagissent normalement à la lumière et à l'accommodation. Elles sont égales.

Le signe de Romberg n'existe pas.

Il n'y a pas de tremblement intentionel, pas de tremblement de la langue, ni des doigts étendus.

La trépidation épileptoïde du pied n'a pu être provoquée.

L'acuité auditive est notablement diminuée à gauche : l'oreille interne paraît atteinte.

L'odorat est normal à droite et à gauche.

La vue est conservée des deux côtés.

Examen microscopique du sang. — Trois trypanosomes ont été découverts dans une même préparation de sang frais après un examen rapide.

Six trypanosomes ont été trouvés dans une préparation colorée de petite étendue ; ils rappellent par leur forme le *Trypanosoma gambiense*.

D'autres préparations en contiennent également.

Traitement. — Le malade a suivi, pendant deux mois environ, un traitement au cacodylate de soude en injections sous-cutanées, à la dose de deux centigrammes par séance.

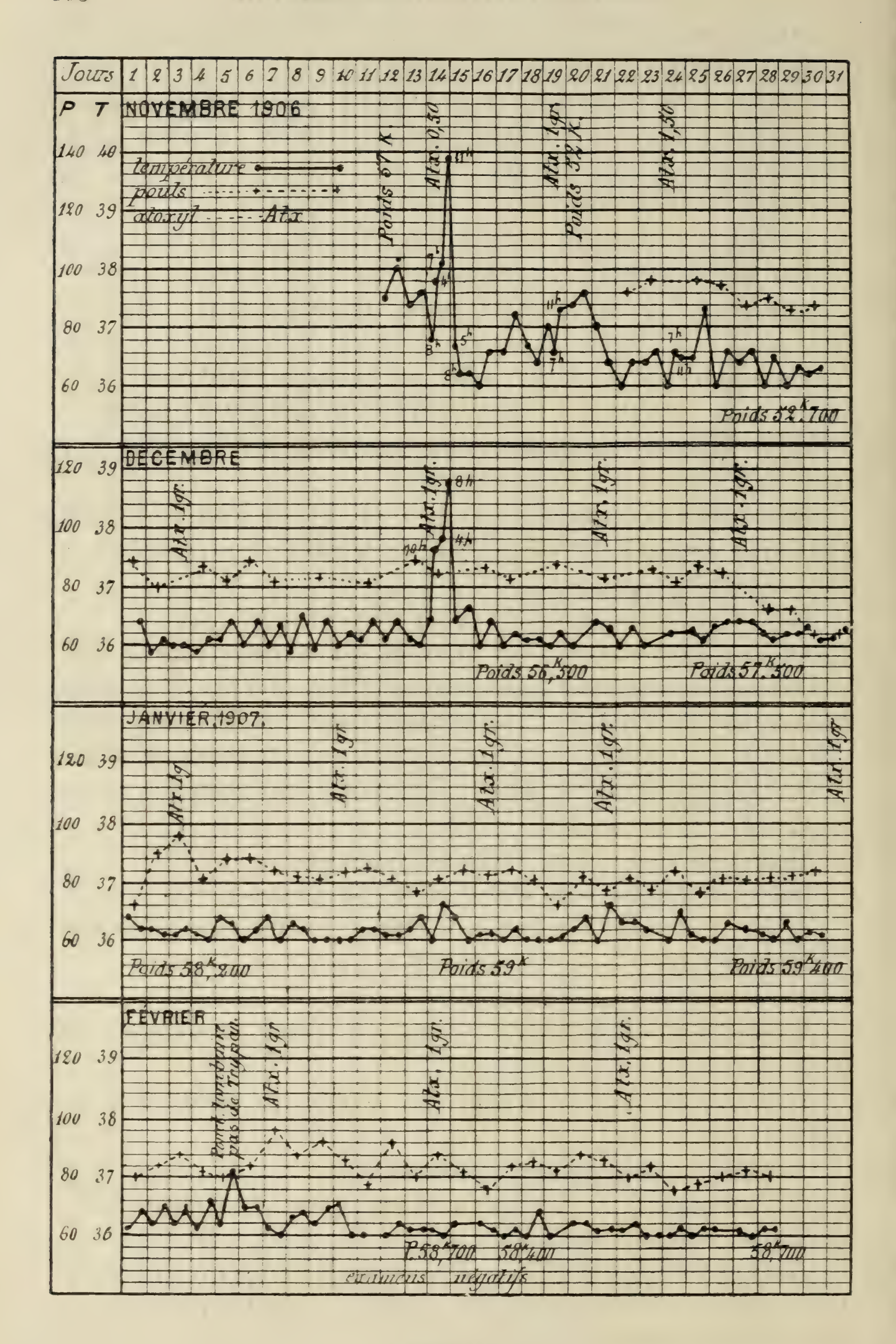
Quand le malade est arrivé à l'hôpital Pasteur, il avait encore les rougeurs du thorax, mais sans prurit.

Les ganglions des aisselles et des aines étaient engorgés, ceux du cou ne l'étaient pas, ni les épitrochléens.

Le malade a la marche traînante, le corps est légèrement courbé en avant.

Il a de l'œdème des jambes et de la face, surtout marqué à la lèvre supérieure, et il accuse de la douleur dans les jambes et dans les pieds.

Lorsqu'on l'interroge, il ne répond pas immédiatement : s'il



Jours
P T
NOVEMBRE 1906
température
pouls
atoxyl Atx
Poids 57 K.
Atx. 0,50
Atx. 1gr.
Poids 52 K.
Atx. 1,50
Poids 52k 700
DÉCEMBRE
Atx. 1gr.
Poids 56k 500
Poids 57k 500
JANVIER 1907.
Atx 1g
Atx. 1gr
Poids 58k 200
Poids 59k
Poids 59k 400
FÉVRIER
Ponct. ganglion. pas de Trypan.
Atx. 1gr.
P. 58k 700
58k 400
58k 700
examens négatifs

Pierre C...

n'est pas somnolent, il a évidemment de la paresse intellectuelle.

Le diagnostic a été chez lui très facile à établir. En examinant le sang directement entre lame et lamelle, on trouve des trypanosomes.

Après centrifugation, on en voit des quantités.

Le sang est auto-agglutinable rapidement et nettement,

Par ponction lombaire, on retire 10 c. c. de liquide céphalo-rachidien qui s'écoule en jet rapide. Il contient des trypanosomes.

Ce liquide devient légèrement louche après ébullition; il est un peu plus trouble que le liquide céphalo-rachidien normal.

Ce malade a été aussitôt mis au traitement par l'atoxyl seul.

Entré le 12 novembre, il reçoit, le 14, $0^{gr},50$ d'atoxyl ; le 19, 1 gramme ; et le 24, $1^{gr},50$; il a supporté sans inconvénients ces doses fortes et répétées.

Les effets du traitement sont rapidement favorables.

Le poids du malade, qui était de 57 kilos le jour de son arrivée, est tombé, huit jours après, à 52 k. 900 par suite de la disparition de l'œdème, pour augmenter ensuite progressivement avec l'amélioration de son état, et atteindre 59 kilos.

Au dynamomètre, on note, à l'arrivée du malade : main droite 75, main gauche 65.

Un mois après : main droite 85, main gauche 75.

Deux mois après : main droite 90, main gauche 85.

A partir de la 1re injection d'atoxyl, les taches rouges ont diminué progressivement pour disparaître après 2 mois.

Les ganglions ont diminué de volume.

L'œdème des jambes n'a pas apparu quand le malade s'est levé.

L'œdème de la face a persisté longtemps tout en diminuant.

Les trypanosomes ont disparu du sang.

Il n'y a plus de trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien, le 1er février 1907.

Température et pouls. Chez ce malade, la température a rarement dépassé 38° et 15 jours après le début du traitement elle n'a pas dépassé 37°.

Par contre le pouls battait 100 et 120 et ce n'est qu'un mois après le traitement qu'il a baissé à 80.

Deux faits méritent d'être retenus.

Les premières injections d'atoxyl ont donné des élévations thermiques : la 1re de trois degrés, la suivante de un degré; puis, tant que les injections ont été fréquemment répétées, il n'y a pas eu d'élévation de température. (Voir la courbe.)

Trouvant le malade amélioré, nous avons cessé les injections d'atoxyl pendant 12 jours; or, le 12e jour, le malade a eu de la fièvre; on a aussitôt donné de l'atoxyl qui a encore augmenté la température.

Depuis cet accident, nous avons donné tous les huit jours 1 gramme d'atoxyl et le malade continue à s'améliorer.

Aujourd'hui, 4 mars 1907, il est en très bon état; de tous nos malades, c'est celui qui a été le plus rapidement amélioré, il faut remarquer que c'est aussi celui qui a reçu les plus fortes doses d'atoxyl.

***

5e *Observation*. — Henri William V. D. M., 30 ans.

Ce malade a été envoyé à l'Institut Pasteur par les docteurs Allain et Lebœuf avec le résumé suivant :

Observation prise à Brazzaville par le Dr Lebœuf, médecin aide-major des troupes coloniales, membre de la mission du sommeil au Congo.

Van der M...., né en Hollande (octobre 1876).

A fait deux séjours au Congo.

Pendant son premier séjour qui a duré quatre ans, il est toujours resté à Brazzaville, sauf pendant un court voyage qu'il fit dans la Sangha à la fin de ce séjour.

A son retour en Europe, on constata, paraît-il, qu'il était atteint de filariose.

Deuxième séjour : a passé deux ans dans la Haute-Sangha (à Carnot et au nord de ce poste). Vient de retourner à Brazzaville.

Le sujet se dit malade depuis huit mois environ : l'affection aurait débuté par une grande sensation de faiblesse, laquelle n'aurait fait depuis que s'accentuer; c'est actuellement à peu près la seule chose dont se plaigne le malade.

Bien que l'appétit soit conservé, l'amaigrissement est très prononcé.

Ganglions. — Deux groupes cervicaux, l'un à gauche, en arrière de l'angle de la mâchoire; l'autre à droite, en arrière du sterno-cléïdo-mastoïdien. Ce dernier est ponctionné; résultats : nombreux leucocytes, pas de trypanosomes.

Eruptions cutanées. — Papules inflammatoires : aucun caractère circiné. Du sang de scarification examiné ne révèle pas de trypanosomes.

Examen direct du sang. — *F. perstans* = très rares.
Trypanosome = 0

Formule hémoleucocytaire.

Polynucléaires	=	44,21 0/0
Lymphocytes	=	45,26 »
Grands mononucléaires	=	4,21 »
Eosinophiles	=	4,92 »
Formes de transition	=	1,40 »
		100,00

Ponction lombaire. — Pression élevée : le liquide céphalo-rachidien, d'apparence limpide, s'élance en jet. 8 c. c. sont centrifugés : résultats : très nombreux leucocytes (surtout lymphocytes), très nombreux trypanosomes.

Traitement. — 25 centigrammes atoxyl le 15 décembre.
50 — — le 19 —

Parti pour l'Europe par le courrier belge du 20 décembre.

Températures :

	0s 15 décembre = 37°.
0m 16 = 36°,4	0s 16 — = 37°,2
0m 17 = 36°,8	0s 17 — = 36°,9
0m 18 = 36°,9	0s 18 — = 37°,2
0m 19 = 36°,3	0s 19 — = 37°,3

Voici les renseignements complémentaires que le malade a pu nous fournir. En mai 1906, il a souffert d'une bilieuse hématurique qui a été le point de départ de ses accidents.

Depuis lors, s'est senti fatigué par moments, mais il a pu continuer son travail et ses tournées d'inspection ; toutefois on avait noté un changement dans son caractère : de doux qu'il était, il était devenu assez irritable.

Depuis le mois de juillet, il a eu des rougeurs sur le corps et des démangeaisons, puis des pustules (craw-craw) dont il porte encore 6 cicatrices pigmentées sur le thorax.

Au mois d'octobre, étant à cheval dans l'après-midi, il est pris de somnolence et tombe ; les jours suivants, la matinée se passe bien, mais l'après-midi il a des somnolences invincibles : un médecin consulté le fait descendre à Brazzaville où il a été examiné par MM. Allain et Lebœuf.

Le 17 janvier 1907, il entre à l'hôpital Pasteur, et ce qui

caractérise son état, c'est une somnolence persistante malgré un état général assez bon.

Sitôt qu'on l'abandonne à lui-même, il s'endort, mais dès qu'on pénètre dans sa chambre, il s'éveille, cause et répond aux questions après avoir réfléchi quelques instants.

Quand il dort, il gratte sa peau avec ses ongles ; quand il est éveillé, malgré lui, il en fait autant, tellement les démangeaisons sont vives.

La peau est légèrement rosée, mais il n'y a pas d'éruption bien nette.

Les ganglions du cou sont très peu engorgés, ceux des aisselles et des aines sont plus volumineux que d'habitude, mais ils sont vraiment très peu tuméfiés.

La rate est assez grosse (10 cm. dans son grand diamètre) et le foie déborde les fausses côtes de deux travers de doigt.

Il n'a pas de fièvre et le pouls n'est pas très rapide. La température évolue aux environs de 37° ; le pouls bat de 80 à 90.

Les urines ne contiennent pas d'albumine.

Au dynamomètre : main droite 70, la gauche 60.

A l'examen du sang, on ne trouve pas de trypanosomes après centrifugation, mais M. Mesnil trouve un embryon de filaire sans gaine (*F. perstans*).

Le liquide céphalo-rachidien contient très peu de trypanosomes, puisque, sur 2 examens pratiqués, M. Vassal seul trouve deux trypanosomes.

Le sang et le liquide céphalo-rachidien sont inoculés dans le péritoine de deux cobayes; le cobaye inoculé avec le sang meurt le 4 mars, son sang contient de très nombreux trypanosomes.

Le sang s'auto-agglutine très rapidement et en gros îlots ; il est examiné par le Dr Darré qui trouve 2,830,000 globules rouges et 3,300 globules blancs.

Ce malade est aussitôt traité et il reçoit le 20 janvier 0,50 d'atoxyl.

Il reste somnolent quelques jours.

Le 22, le malade reçoit sous la peau 1 gramme d'atoxyl.

Le 23, il vomit ses aliments, mais il n'a pas de diarrhée. Craignant des accidents arsenicaux, on attend 5 jours avant de

renouveler la même dose, et tous les 5 jours il reçoit 1 gramme d'atoxyl pendant la fin de janvier et le mois de février.

En même temps nous donnons 0,50 d'extrait de quinquina et de 1 à 6 milligrammes de strychnine, qui ici est indiquée, étant donné l'état d'affaissement général.

Le samedi 26, le malade est un peu plus éveillé et le dimanche 27, il peut se lever pendant une heure.

Son état s'améliore ; cela durera-t-il ? La suite le dira et l'observation de ce malade sera des plus intéressantes, car, contrairement aux observations II, III et IV, c'était bien un dormeur, et presque uniquement un dormeur [1].

A ce jour, 4 mars 1907, le malade est sensiblement dans le même état; parfois il a encore des somnolences, mais il passe des journées entières sans dormir et il commence même à s'inquiéter de ses intérêts et de ses voisins; nous sommes loin d'avoir eu l'amélioration rapide constatée dans l'observation IV; remarquons toutefois que les malades II et III ne se sont bien rétablis qu'après trois mois de traitement.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

De nos observations, un premier fait se dégage avec évidence : la maladie du sommeil chez les blancs évolue différemment suivant les sujets.

S'il existe des cas où le symptôme dominant et caractéristique est la somnolence comme dans notre V[e] observation, il en est d'autres où la maladie évolue de toute autre façon.

L'observation II est celle d'un cardiaque, et les premiers symptômes ont été l'essoufflement et les palpitations.

Le cas n° III est caractérisé par l'engorgement ganglionnaire généralisé, par la fièvre, l'asthénie, l'œdème des jambes et les douleurs vives dans les pieds.

Le malade de l'observation IV a eu des œdèmes et des éruptions cutanées, de l'œdème et de la douleur des jambes et un peu de paresse intellectuelle sans véritable sommeil.

Après avoir signalé ce qui différencie nos observations, étudions les symptômes communs.

Début. — 3 malades, II, III et V, font remonter les premiers

1. Les observations 1, 4 et 5 ont été prises par les D[rs] Louis Martin et Darré.

symptômes de leur mal à une attaque de bilieuse hématurique. Nous ne pensons pas que la bilieuse ait été le point de départ de leur infection; ces malades étaient probablement infectés depuis longtemps, mais ils résistaient à la généralisation des trypanosomes et il est fort possible que la bilieuse intercurrente, en les privant momentanément de leurs moyens de défense, ait permis aux trypanosomes de se généraliser.

Chez tous les malades, les *symptômes asthéniques* ont été précoces, mais ils ont été surtout accentués pour les malades II, III et IV.

Dès le début, les malades II et III ont accusé une *douleur vive dans les pieds* et cette douleur persiste encore chez tous les deux, malgré la disparition des trypanosomes, malgré l'amélioration de l'état général. Cette douleur, qui a été assez vive pour gêner la marche, a cependant considérablement diminué.

Les malades IV et V ont eu dès le début des *troubles cutanés*, sans prurit chez le IV, avec prurit intense chez le V. On sait que tous les auteurs insistent sur ces troubles cutanés et les regardent comme très fréquents.

Tous nos malades ont eu de l'*engorgement des ganglions*, mais à des degrés différents et avec des localisations un peu différentes. Seul le n° III a eu une hypertrophie très marquée des ganglions du cou, les n°s II et V ont eu une légère hypertrophie de ces ganglions, le n° IV n'avait rien aux ganglions du cou; comme plusieurs auteurs regardent l'engorgement des ganglions du cou comme pathognomonique, il est bon de savoir qu'il peut ne pas exister. Par contre tous nos malades avaient de l'engorgement des ganglions des aines et des aisselles.

On a même une sensation assez caractéristique lorsqu'on recherche les ganglions de l'aisselle, on trouve en général un ou plusieurs ganglions augmentés de volume; ils sont aplatis et semblent plus augmentés en surface qu'en épaisseur; ils ne roulent pas sous les doigts, mais à la palpation, on les sent assez durs et on peut délimiter leurs contours; il n'y a pas d'inflammation périganglionnaire.

Troubles cardiaques. — Un seul de nos malades, le II, a eu des troubles cardiaques accentués qui se sont traduits par une hypertrophie du cœur. Chez trois autres, nous avons trouvé une accélération des battements du cœur, signe si fréquent et

si bien décrit par tous les auteurs ; mais encore ici nous avons une exception : le n° V, qui est si franchement somnolent, n'a pas de véritable tachycardie quoique le pouls soit plus fréquent qu'à l'état normal.

Fièvre. — Tous nos malades ont eu des poussées fébriles s'accompagnant de malaises généraux et d'élévation de température ; rien n'est régulier dans la succession de ces accès, la température monte souvent de plusieurs degrés. Pour le n° V, l'élévation est à peine de 1° : il n'y a pas ordinairement de frisson initial.

Des *transpirations abondantes* sont signalées chez 2 malades : le III et le V ; ces sueurs ne sont pas en rapport avec les accès fébriles. Les sueurs accompagnent la fièvre, mais elles peuvent exister sans elle.

Filaires. — Chez 3 malades, nous avons trouvé des embryons de filaires : deux étaient probablement des filaires *diurna*, la 3e des filaires *perstans*.

Nous devons signaler que ces embryons étaient très rares, et quand on a l'habitude d'examiner du sang contenant des embryons de filaires nocturnes, on est surpris de trouver aussi peu d'embryons pour les *diurna* et les *perstans*.

Nous avons déjà indiqué dans les observations quels symptômes pouvaient être attribués aux filaires et comment l'observation III avait pu être complètement modifiée par ces complications.

Diagnostic. — Quel que soit le mode de début de la trypanosomiase, le point important est d'établir sûrement un diagnostic.

Les symptômes cliniques, lorsqu'ils sont groupés, lorsqu'ils se présentent avec netteté, permettent au médecin, *dès le début*, de suspecter la maladie du sommeil. Lorsque la somnolence survient et qu'elle a été précédée de fièvres irrégulières ne cédant pas à la quinine avec pouls dissocié, d'engorgement ganglionnaire, de troubles cutanés, œdèmes, démangeaisons, éruptions, alors le diagnostic s'impose, mais il est souvent trop tard pour intervenir efficacement.

Aussi a-t-on cherché à suppléer à l'insuffisance des symptômes du début par la recherche du parasite.

Examen du sang. — Le trypanosome se trouve dès le début

dans le sang et même il paraît plus abondant au début qu'à une période avancée de la maladie.

Ainsi l'examen direct du sang pris au doigt a montré des trypanosomes au Dr Rodhain pour le no III ; et aux Drs Kéraudel et Heckenroth pour le no IV.

Mais bien souvent les trypanosomes sont trop rares dans le sang pour qu'il soit facile de les voir à un examen direct. On est obligé alors de recevoir le sang dans de l'eau citratée et de centrifuger le mélange ; les trypanosomes s'accumulent avec les globules blancs, à la surface du dépôt. On peut ainsi les déceler alors qu'on ne les avait pas vus à l'examen direct ; c'est ce qui est arrivé pour le no II. Mais pour les nos I et V, même avec ce procédé, il a été impossible de découvrir le moindre trypanosome dans le sang.

De l'avis de tous les auteurs, les trypanosomes peuvent devenir très rares dans le sang à la fin de la maladie ; c'était le cas du no I.

Ils sont également assez rares lorsque le malade n'a pas de fièvre, et au moment de l'accès fébrile ils deviennent plus nombreux. C'est un fait qu'il importe de connaître, car si, chez un malade suspect de trypanosomiase, on ne trouve pas de trypanosomes en temps ordinaire, il faut se hâter de faire un nouvel examen si la fièvre survient.

Auto-agglutination. — Il arrive que l'examen du sang, ne montrant pas de trypanosomes, fournit cependant un renseignement précieux. Le sang écrasé entre lame et lamelle s'étale et reste généralement uniformément étalé ; après un certain temps, les globules se réunissent en piles, mais ne s'agglutinent pas. Au contraire, chez les malades ou animaux infectés par le trypanosome humain, très rapidement les globules s'agglutinent et s'accumulent de telle façon qu'à l'œil nu on voit de petites taches séparées par du sérum. Tantôt les taches sont volumineuses, tantôt elles sont plus petites.

Les amas volumineux se rencontrent surtout chez les malades très infectés, puis à la suite du traitement, les amas deviennent moins gros, et lorsque la guérison survient, l'auto-agglutination disparaît. Ce phénomène a été trouvé par Christy ; les savants de l'école de Liverpool, qui l'ont recherché chez les animaux, lui attribuent une grande valeur diagnostique.

Même en l'absence de trypanosomes, tout sang qui auto-agglutine est suspect d'infection ; la disparition de cette auto-agglutinabilité est un critérium de guérison [1]. Chez tous nos malades, même chez ceux qui ne contenaient pas de trypanosomes dans le sang; nous avons trouvé de l'auto-agglutination et, malgré la grande amélioration de nos malades, l'auto-agglutination, quoique très réduite, n'a pas entièrement disparu.

Examen de la lymphe des ganglions engorgés. — Lorsqu'on veut confirmer le diagnostic clinique en recherchant le trypanosome, Greig et Gray, Dutton et Todd conseillent de ponctionner les ganglions avec une grosse aiguille, de retirer de la lymphe, et tous les auteurs s'accordent à reconnaître que le plus souvent on trouve les trypanosomes dans la lymphe.

Nous avons recherché les trypanosomes dans la lymphe une fois et le savons facilement rencontrés. Chez les autres malades, nous avons pratiqué la ponction lombaire et, comme chez tous, nous avons trouvé des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien, nous avons regardé comme inutile de les rechercher dans les ganglions qui, il faut bien le dire, n'étaient pas, chez nos malades I, II, IV et V, facilement ponctionnables.

Examen du liquide céphalo-rachidien. — Tous nos malades avaient des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien, mais le n° V en avait très peu ; pour tous les autres le diagnostic a été facile à établir : après centrifugation, décantation et examen du culot du tube, on trouvait plusieurs trypanosomes par préparation.

Chez deux malades, le II et le III, le liquide contenait une assez notable quantité d'albumine ; chez les autres, il y en avait des traces.

C'est M. Nicolle qui a attiré notre attention sur cette recherche. Etudiant la peste bovine à Constantinople, il avait remarqué que tous les animaux infectés par des piroplasmes avaient de l'albumine dans le liquide céphalo-rachidien ; il pensait que les trypanosomes envahissant le liquide céphalo-rachidien, il devait y avoir de l'albumine témoignant de leur présence et des lésions qu'ils occasionnent.

Dans deux cas, le fait a été très net ; chez les trois autres malades, il y avait bien de l'albumine, mais en petite quantité.

1. Thomas, — Mesnil, Nicolle et Aubert.

Cette recherche est importante à un autre point de vue : Lorsqu'il y a de l'albumine, les méninges laisseront peut-être passer les médicaments ; lorsqu'il n'y en a pas, la physiologie nous apprend qu'elles sont imperméables. Nous verrons au moment du traitement toute l'importance de ce fait.

Inoculation expérimentale. — Lorsqu'un malade est suspect de trypanosomiase et que les examens du sang, de la lymphe, du liquide céphalo-rachidien ne montrent pas de trypanosomes, il faut toujours, avant de porter un diagnostic, inoculer à des animaux les liquides suspects.

Les cobayes, les rats, les souris et les singes peuvent servir pour ces diagnostics ; il faut bien s'assurer auparavant que les souris ou les rats ne contiennent pas de parasites avant l'inoculation. Souvent un sang qui ne montre pas de trypanosomes à l'examen infecte cependant l'animal ; les premiers trypanosomes apparaissent vers le 15e ou le 20e jour. Il faut examiner souvent les animaux, car l'infection est parfois légère et sa marche très irrégulière.

Autre fait qui nous a frappé : nous avons inoculé fréquemment des liquides contenant des trypanosomes à des cobayes alors que les malades étaient en traitement. Très souvent les cobayes n'ont rien eu. Est-ce l'effet du traitement? Ce fait, qui est intéressant, est une des raisons qui nous obligent à être très réservé dans l'affirmation de la disparition absolue des trypanosomes et par suite de la guérison.

Après tout ce qui précède, il est bien permis d'affirmer que, si le diagnostic de trypanosomiase est définitivement établi lorsqu'on rencontre des trypanosomes, il faut bien savoir que cette recherche très simple, très facile parfois, peut être dans d'autres cas entourée de difficultés qui ne seront surmontées que par la patience et la constance dans les recherches.

ESSAIS DE TRAITEMENT

Sur les indications de M. Laveran, nous avons essayé d'abord l'association du traitement arsenical avec le trypanroth pour l'observation II.

Puis, avant le Congrès de Lisbonne, MM. Mesnil et Nicolle [1] nous ont fait connaître les bons effets qu'ils obtenaient chez les animaux avec l'atoxyl, et nous ont donné les indications des doses à injecter.

D'autre part, à son retour du Congrès de Lisbonne, M. Laveran nous a fait part des travaux publiés par Kopke [2] et des résultats tirés de ses observations chez les nègres.

Pour nos derniers malades, nous avons également profité des renseignements fournis par le Dr Van Campenhout sur l'association de l'atoxyl et de la strychnine.

Sur 4 malades encore vivants, 3 ont été très améliorés ; le 4e malade est encore au début du traitement et nous ne pouvons pas tirer des conclusions d'un cas aussi récent. Il sera cependant très intéressant de suivre l'évolution du mal, car le malade en était à la période de somnolence bien caractérisée, et s'il s'améliore à une période aussi avancée, cela permet de grands espoirs.

TRAITEMENT MIXTE : ACIDE ARSÉNIEUX ET TRYPANROTH

L'acide arsénieux, comme le trypanroth, a été injecté sous la peau.

Acide arsénieux. — Nous nous sommes servi de la formule donnée par M. Laveran, dont 1 c. c. représente 4 milligrammes d'acide arsénieux [3].

Trypanroth. — Le trypanroth est, comme on sait, une couleur de la série de la benzidine, qui a été étudiée par Ehrlich et Shiga [4], qui ont démontré son action dans le traitement d'une trypanosomiase, le Caderas, chez la souris.

Le trypanroth est soluble dans l'eau distillée et dans l'eau physiologique à 1/100 et même à 1/50.

1. MESNIL, NICOLLE, AUBERT, *Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1907.

2. On sait que c'est THOMAS de Liverpool qui, le premier, a publié un travail sur les trypanosomiases expérimentales traitées par l'atoxyl. *British med. journal*, 27 mai 1905. Les auteurs qui ont appliqué ce traitement à l'homme sont : Kopke, Van Campenhout, Broden et Rodhain, le professeur R. Koch, Thiroux et d'Anfreville.

3. | | |
|---|---|
| Eau distillée | 250 c.c. |
| Chlorure de sodium chimiquement pur | 1,70. |
| Arsénite de soude chimiquement pur | 1,63. |

On ajoute une goutte de solution de soude pour rendre la liqueur franchement alcaline et l'on stérilise à l'autoclave. (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 30 janvier 1905.)

4. *Berlin klin. Wochenschr.*, 28 mars et 4 avril 1904.

Nous avons injecté tantôt $0^{gr},40$ dissous dans 40 c. c. d'eau, tantôt $0^{gr},50$ dissous dans la même quantité d'eau.

Les injections sont un peu douloureuses, surtout si l'on se sert d'eau distillée comme dissolvant ; elles sont supportables avec l'eau physiologique.

Nous avons employé les doses suivantes :

Acide arsénieux.		Trypanroth	
22 mars.....	12 milligrammes.		
28 mars.....	16 —	mars......	0,40
1er avril	16 —	avril......	0,50.
5 avril......	20 —	avril......	0,50.

et la suite, comme on le voit sur la courbe de température ; en tout le malade a reçu, du 22 mars au 26 mai, 156 milligrammes d'acide arsénieux et 2 gr. 60 de trypanroth.

L'acide arsénieux n'a pas donné d'accidents aux doses indiquées.

Le trypanroth a été un peu douloureux au début ; voici en quelques mots ce qu'on observe à la suite de l'injection de trypanroth.

Au point d'injection la peau devient rouge et, les heures suivantes, on voit sur la peau de grandes taches tout autour du point d'inoculation ; les plus près sont les plus rouges. Ce n'est que 3 et 4 jours après que la peau prend d'abord une teinte rosée, puis de plus en plus uniformément foncée.

Les urines ne se colorent que deux et trois jours après l'injection ; l'élimination est très lente et elles restent colorées très longtemps après, de même pour le sérum du sang. Si bien que le malade, qui a reçu le 26 avril la dernière injection de trypanroth, avait le sérum encore teinté en décembre : soit 8 mois après.

Il n'y a pas eu d'accidents généraux avec le trypanroth ; il est vrai que nous avons suspendu les injections une première fois au moment d'un zona, une seconde fois après un érysipèle qui a provoqué de l'albuminurie.

Il n'y a pas eu d'accidents cutanés à proprement parler ; nous avons noté cependant une desquamation des jambes et des pieds, coïncidant avec une exacerbation de la douleur des pieds.

Comme ces complications ont suivi l'érysipèle, il est difficile de les attribuer au trypanroth plutôt qu'à l'érysipèle.

Les résultats du traitement mixte ont été bons ; au point de vue général le malade s'est amélioré ; les ganglions ont diminué considérablement de volume, les accès de fièvre se sont espacés, mais lentement; par contre, les trypanosomes ont persisté dans le sang. Cela peut tenir à ce que nos doses de trypanroth étaient trop faibles ; M. Laveran, pour guérir ses chiens de 10 kilogrammes, a employé 40 centigrammes ; nous aurions dû employer 2 et 3 grammes de trypanroth.

Cela peut tenir aussi à la gravité du cas, car ce malade traité par l'atoxyl a eu une rechute qui a été très tenace et n'a cédé qu'à des doses élevées et répétées d'atoxyl.

Atoxyl. — L'atoxyl est un anilide méta-arsénique.

L'eau froide en dissout 17 0/0 ; sa richesse en acide arsénique s'élève à 37,69 0/0. Tout en étant 40 fois moins toxique que la liqueur de Fowler, il permet d'introduire dans l'organisme une quantité d'arsenic 10 fois plus considérable qu'avec l'acide arsénieux.

Sa faible toxicité semble due à sa lente décomposition dans l'organisme.

Nous nous sommes servi pour nos essais d'une solution au dixième, qui peut se stériliser à l'autoclave. Chaque centimètre cube contient donc 10 centigrammes du médicament. Nous avons d'abord essayé d'injecter 0,50 tous les 15 jours ; puis nous avons pu donner facilement 1 gramme tous les 8 jours ; dans un cas, pour aller vite, nous avons donné sans inconvénient : le premier jour 0,50, cinq jours après 1 gramme, cinq jours après 1gr,50 et ensuite tous les huit jours 1 gramme.

La dose de 1gr,50 est certainement voisine de celle qu'il ne faut pas dépasser ; notre malade n° IV a très bien supporté 1,50, tandis que pour le n° V, qui paraissait plus sensible, nous sommes resté à 1 gramme.

Les effets du médicament sont très nets chez l'homme ; dès le lendemain de l'injection, les trypanosomes disparaissent du sang, mais ils reparaissent les jours suivants, si l'on ne renouvelle pas les doses assez vite ; au début du traitement, nous pensons qu'il faut donner le médicament de cinq en cinq jours, puis de huit en huit jours.

Nous avons noté un point intéressant : très souvent, au début du traitement, les malades ont de la fièvre à la suite de l'injection d'atoxyl, puis à l'injection suivante la fièvre est moins vive et, à la troisième injection, elle est à peu près nulle.

On pourrait croire d'abord que cela tient au médicament et qu'il faut que l'organisme s'habitue à l'atoxyl ; cela ne doit pas être, car on voit parfois de la fièvre, alors que le malade est habitué au médicament.

Cette élévation de température paraît plutôt liée à la présence du trypanosome dans les organes et résulter d'une réaction de l'organisme pour se libérer du parasite. Prenons, par exemple, l'observation IV. Il y a très forte élévation de température (40°) après la première injection, puis une moins forte après la deuxième, et les suivantes n'en ont pas ; mais on reste 12 jours sans donner de l'atoxyl, la température remonte avant l'injection à 37°,6, on fait à 2 heures l'injection d'atoxyl et à 8 heures du soir le malade a près de 39° ; pour les injections suivantes, le malade n'a plus rien.

L'atoxyl peut, dans certains cas au moins, agir sur les trypanosomes contenus dans le liquide céphalo-rachidien.

Trois de nos malades n'ont plus de trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien.

Ceci est en contradiction avec les observations de Kopke ; mais il faut dire que Kopke a étudié des nègres, et il faut dire aussi que les méninges de nos malades étaient perméables, puisqu'il y avait de l'albumine en assez notable quantité dans ce liquide dans deux cas, II et III, et des traces pour le IV.

Kopke, trouvant que les trypanosomes ne disparaissaient pas du liquide céphalo-rachidien, cherche maintenant à compléter sa thérapeutique en injectant dans le canal rachidien des couleurs et de l'atoxyl.

Ganglions et peau. — Très rapidement l'engorgement ganglionnaire disparaît, les rougeurs et les œdèmes diminuent, puis disparaissent, mais après 3 mois notre n° IV a encore de l'œdème de la face, surtout marqué à la lèvre supérieure.

Les démangeaisons se calment assez vite.

Poids. — Le premier effet de l'atoxyl est de diminuer le poids des malades. Cela s'explique assez facilement : tous nos malades ont été mis au lit dans les premiers jours de leur

traitement; de ce fait, leurs œdèmes ont diminué; mais en plus, sous l'influence de l'atoxyl, les œdèmes diminuent rapidement; aussi avons-nous noté une perte de 3 kilogrammes en moyenne dans les huit premiers jours.

Dans la suite, les malades augmentent de poids progressivement : environ de 1 à 2 kilos par mois.

Douleurs des pieds. — Comme nous l'avons déjà indiqué, chez deux malades, le II et le III, ces douleurs ont été assez intenses pour gêner la marche et plus de 6 mois après le début du traitement elles persistent, mais ne sont plus une cause de gêne fonctionnelle.

Association de l'atoxyl et de la strychnine. — Deux malades n'ont jamais eu que de l'atoxyl, le n° II et le n° IV.

Pendant 1 mois nous avons donné de 1 à 6 milligrammes de strychnine au n° III, qui paraît s'en être bien trouvé.

Au n° V, qui était somnolent et apathique, dès le début du traitement, nous avons donné de la strychnine, car le cas était grave, et nous désirions faire profiter le malade de toutes les ressources thérapeutiques. Comme nous l'avons déjà dit, chez ce malade l'amélioration n'est pas frappante comme chez le n° IV qui n'a reçu que de l'atoxyl; il est vrai que la gravité du cas nous oblige à être très réservé dans l'appréciation de ce mode de traitement.

RÉSUMÉ

En résumé, l'atoxyl a une action très manifeste sur les trypanosomes, qui disparaissent du sang comme, dans la malaria, disparaissent les hématozoaires sous l'influence de la quinine.

On nous permettra de poursuivre la comparaison entre ces deux maladies. De même que dans la malaria, cette disparition ne signifie pas guérison et les rechutes sont fréquentes : ainsi, dans la trypanosomiase, nous avons eu des rechutes, et quand nous suspendrons le traitement, nous en aurons vraisemblablement.

Nous connaissons pour la malaria les rechutes à longue échéance. Nous ne pouvons pas encore dire ce qui se passera pour les trypanosomiases; mais, avant de parler de guérison complète, il faut savoir attendre et observer de longues années.

DE LA MALADIE TOXIQUE

PROVOQUÉE PAR L'INJECTION INTRASTOMACALE

DE BACILLES MORVEUX TUÉS

Par le Dr J. CANTACUZÈNE et P. RIEGLER

I

On sait depuis longtemps que la paroi intestinale est, à l'état normal, perméable pour les bactéries des voies digestives. C'est dans ce phénomène qu'il faut chercher l'origine d'un grand nombre de cas d'immunité naturelle ou d'intoxications chroniques dont on ignore l'étiologie : notion importante imposée dans la science par E. Metchnikoff. D'autre part, les travaux récents de V. Behring et de Calmette ont mis en évidence la fréquence de ce processus, ainsi que son importance dans la genèse de diverses infections, entre autres de la tuberculose. Enfin, dès maintenant, le tractus digestif nous apparaît comme pouvant servir de voie d'introduction pour un certain nombre de vaccins.

Il nous a donc semblé intéressant d'analyser les phénomènes qui accompagnent l'ingestion, par l'estomac, de bactéries toxiques tuées et de déterminer les voies de pénétration qu'elles suivent pour parvenir dans la circulation générale; nous avons, dans ce but, choisi le bacille morveux; une étude de ce genre constitue en effet le préliminaire indispensable à toute tentative faite en vue de vacciner les cobayes contre la morve par voie intestinale.

Dès 1851, E. Renault[1] signalait la pénétration du contage morveux par les voies digestives; dans une série de communications faites de 1894-1897, Nocard[2] démontre que l'ingestion de virus morveux (culture, jetage ou pus) détermine chez les chevaux, ânes et mulets des lésions intestinales (cæcum) rapidement suivies de localisations pulmonaires. Un certain

1. *Recueil de médecine vétérinaire*, 1851, p. 873.
2. *Bull. Soc. centr. méd. vétér.*, 1894, p. 225.
Ibid., 1894, p. 367.
Ibid., 1897, p. 781.

nombre de travaux, entre autres ceux de Cadéac et Mallet[1] et de Schütz[2], ont, depuis lors, confirmé les vues du professeur d'Alfort.

Les expérimentateurs cités plus haut employaient des cultures vivantes; nous nous sommes servis de cultures tuées[3]; ce sont les résultats de nos observations que nous consignons ici.

II

TECHNIQUE EMPLOYÉE

Nous avons employé le cobaye adulte comme animal d'expérience; les microbes provenaient du service de la malléine de l'école vétérinaire de Bucarest : ils avaient fait par le cobaye de nombreux passages. Nos cultures, faites en boîtes de Roux sur gélose glycérinée, étaient laissées 3 jours à l'étuve à 37°. — Pour nos expériences nous avons employé des bacilles tués tantôt par la chaleur à 60°, tantôt par l'alcool absolu (24 h. de contact), puis centrifugés et desséchés dans le vide.

Afin de n'avoir plus à y revenir, nous allons indiquer la toxicité des diverses doses de cette poudre bactérienne :

a) *Bacilles tués par l'alcool :* en injection *intrapéritonéale*, 40 milligrammes tuent en 1 ou 2 jours un cobaye de 500 grammes; 25 milligrammes déterminent une cachexie lente et la mort au bout de 2-3 semaines; 5-10 milligrammes font légèrement maigrir l'animal, qui guérit néanmoins. En inoculation directe *par la voie stomacale* (au moyen de la sonde œsophagienne), il faut des doses beaucoup plus élevées pour produire des effets semblables : 150 milligrammes sont nécessaires pour amener la mort rapide; 50 milligrammmes suffisent souvent, mais pas toujours, pour déterminer la mort lente par cachexie. Enfin l'inoculation de doses plus faibles est suivie de guérison après une courte maladie;

b) *Bacilles tués par la chaleur à* 60° : Leur toxicité est double environ de celle des bacilles tués par l'alcool : *en injection intrapéritonéale*, 20 milligrammes suffisent pour tuer rapidement l'animal; 10-15 milligrammes amènent la mort par cachexie

1. *Bull. Soc. centr. med. vétér.*, 1894, p. 555.
2. Cité par NOCARD et LECLAINCHE dans leur *Traité de Maladies microbiennes des animaux*.
3. *C. R. Soc. biol.*, 1906, p. 231.

lente. Cette différence de toxicité devient moins évidente dans le cas *d'injection intrastomacale*.

Les chiffres établis par nous diffèrent peu de ceux que donne M. Nicolle dans son récent mémoire [1], et le rapport (1/2) des deux toxicités est le même dans ses expériences comme dans les nôtres.

Les bacilles morveux tués ne se colorent pas aisément dans les coupes ; nous nous sommes bien trouvés de l'emploi du mélange de Giemsa : les coupes sont laissées 20 minutes en contact avec ce colorant *non étendu d'eau;* on lave *rapidement* à l'eau avant de déshydrater à l'alcool. Les bacilles morveux libres contenus dans les espaces lymphatiques se colorent en bleu pâle; en rose dans l'intérieur des leucocytes polynucléaires. Nos pièces étaient toujours fixées par le formol à 10 0/0.

Nous ferons précéder l'étude de l'intoxication par voie intestinale de quelques observations relatives aux phénomènes qui accompagnent l'injection des bacilles tués dans le péritoine; la comparaison de ces deux séries d'expériences nous permettra de relever certains faits intéressants.

III

PHÉNOMÈNES TOXIQUES CONSÉCUTIFS A L'INOCULATION INTRAPÉRITONÉALE DES BACILLES MORVEUX TUÉS.

1. Une dose rapidement mortelle de bacilles tués, injectée dans le péritoine, provoque 2-3 heures après l'inoculation une chute de la température rectale qui tombe à 35°-34°. Cette hypothermie est d'autant moins forte que la survie est plus longue et, dans ce cas, elle est suivie d'une élévation de température qui se maintient plusieurs jours à 39°.5-40°.5. L'hypothermie manque et la fièvre apparaît d'emblée après l'emploi de doses faibles ne donnant qu'une maladie passagère (amaigrissement) suivie de guérison.

2. L'inoculation intrapéritonéale provoque toujours un amaigrissement marqué et les animaux perdent 60-120 grammes en 3 semaines. Cet amaigrissement est plus rapide et plus accentué avec les bacilles tués par la chaleur à 60° qu'avec ceux tués par l'alcool.

1. *Ann. Inst. Pasteur*, 1906, p. 625.

3. A l'autopsie d'un cobaye mort d'intoxication aiguë (20-48 heures), on trouve dans la cavité péritonéale un exsudat abondant, sanguinolent, louche ; la plèvre et le péricarde contiennent un liquide sanguinolent et clair. Il y a une congestion viscérale intense : les capsules surrénales, les testicules, les centres nerveux surtout sont violemment hyperhémiés. On constate des suffusions sanguines dans la paroi intestinale, dans le cæcum, au niveau de l'épiploon. La rate est grosse sans être diffluente; les poumons hyperhémiés présentent de nombreux petits foyers hémorragiques sous-pleuraux. Des dépôts fibrineux jaunâtres existent à la surface de l'épiploon et des différents mésos.

Quand la vie se prolonge, les exsudats fibrineux diffus se résorbent; le long du bord libre de l'épiploon se forment de petits abcès caséeux qui diminuent de volume, se transforment en nodules fibreux et finalement disparaissent au bout de 4-5 semaines, le bord de l'épiploon restant considérablement épaissi. Quelques adhérences fibreuses s'établissent et persistent entre l'épiploon et les organes voisins; la rate reste souvent enfouie dans une épaisse gangue fibreuse.

Au bout de 4-5 jours, les reins sont devenus mous, énormes, blanchâtres, avec un épaississement de la couche corticale : cette néphrite épithéliale guérit souvent sans laisser de traces; souvent aussi l'organe, au bout d'un mois, présente de la réduction dans l'épaisseur de la couche glomérulaire; il se forme des adhérences sous-capsulaires.

Quant à la rate, elle atteint au bout d'une semaine des dimensions parfois colossales; elle est large, épaisse, dure, bosselée par suite de l'hyperplasie des follicules Malpighiens; puis, après un mois, elle a repris l'aspect normal. Cette hypertrophie transitoire s'observe aussi au niveau des ganglions mésentériques et trachéo-bronchiques.

4. *Etude microscopique des exsudats.* — Le fait qui frappe d'abord, c'est la rapidité avec laquelle disparaissent les bacilles morts. Sur les frottis de l'épiploon et des amas fibrineux colorés par le bleu ou la thionine, on ne met en évidence, après 20 heures, que de très rares bâtonnets. Cette disparition se constate dès la 10e heure quand la dose injectée n'a pas été trop forte. Disons de suite que cette apparence est due, en partie,

à la perte extraordinairement rapide de la basophilie chez les B. morveux tués englobés par les leucocytes. Les préparations colorées à l'éosine nous font voir, à un moment où les colorants basiques ne décèlent plus de microbes, de nombreux bâtonnets, entiers ou réduits en granulations, à l'intérieur des leucocytes poly ou mononucléaires.

Cette cause d'erreur dans l'observation signalée, étudions le processus inflammatoire.

Dans les cas d'intoxication aiguë suivie de mort en 7-20 *heures*, l'afflux leucocytaire est assez faible. Les bacilles sont rapidement déposés à la surface de l'épiploon où on les retrouve dans les amas fibrineux. Les leucocytes s'en chargent, mais sont bientôt frappés de nécrose avec fonte complète du noyau; à leur intérieur les microorganismes se transforment en granules éosinophiles; cette transformation est particulièrement rapide dans le protoplasme des mononucléaires, qui semblent mieux résister que les polynucléaires à l'action nécrosante des poisons.

L'exsudat contient toujours un nombre considérable de cellules endothéliales gonflées, vacuolisées, en voie de désagrégation; à leur contact, sur les préparations, il n'est pas rare de trouver des amas bactériens, à peine colorables, parfois réduits en granulations basophiles. Etant donnée la facilité incroyable avec laquelle les bacilles morveux morts se désagrègent dans l'intérieur des leucocytes, de l'autre la véritable fonte leucocytaire et endothéliale qui accompagne l'intoxication aiguë, on doit se demander si bon nombre de bacilles morts ne se dissolvent pas en dehors des leucocytes et au contact des produits exsudés par ces derniers ? D'où la rapidité de la mort. Cette possibilité semble confirmée par le fait que, dans certains cas suraigus, il existe une frappante disproportion entre le grand nombre de bacilles disparus et la pénurie relative de leucocytes immigrés.

Dès les premières heures de la maladie, des bacilles nom breux sont transportés dans la rate; 4-5 heures après l'inoculation, les frottis de cet organe nous les montrent en partie libres et colorés en bleu, en partie englobés par les leucocytes et déjà transformés en granules éosinophiles.

Les frottis du poumon y font voir, dès la 7e heure, quelques

bacilles morveux libres parmi de nombreux leucocytes nécrosés. *Quand la survie se prolonge*, le tableau diffère. La leucocytose au niveau de l'épiploon est énorme et, en très peu d'heures, la totalité des bacilles sont englobés et transformés, en même temps qu'une partie des phagocytes subissent cette nécrose avec fonte nucléaire si caractéristique de l'intoxication morveuse.

Dans le protoplasma d'un grand nombre de polynucléaires ayant résisté à l'action nécrosante, s'observe une modification intéressante : ce protoplasma se charge d'une substance amorphe, grumeleuse, occupant la cellule partiellement ou en totalité, et qui, après coloration par la thionine, se colore métachromatiquement en vert émeraude. L'éosine ne la colore pas; le mélange de Giemsa la teinte en gris violacé. Elle existe dans 1/3 des polynucléaires environ, aussi bien à la surface de l'épiploon que dans les sinus de la rate. Cet aspect ne se produit pas dans les cas d'intoxication aiguë, mais seulement dans ceux où l'organisme se défend avec quelque succès. Il s'agit peut-être là de quelque produit microbien soluble, englobé et élaboré par le protoplasma leucocytaire. Le phénomène rappelle celui que l'un de nous [1] a décrit dans l'intoxication par les bacilles tuberculeux dégraissés : seulement, dans ce dernier cas, la thionine colore en rouge vineux la substance amorphe intraleucocytaire.

Du 1er au 3e jour qui suit l'inoculation, les macrophages des sinus spléniques détruisent des quantités formidables de polynucléaires et montrent, pendant quelque temps après la dissolution de ces derniers, de grandes vacuoles à contenu uniformément éosinophile.

Nous avons vu plus haut que les masses caséeuses de l'épiploon ne se résorbaient que fort lentement. Or, sur les frottis de ces masses, faites 2-3 jours après l'inoculation, il est impossible de retrouver trace de corps microbiens, quels que soient les réactifs colorants employés. Il faut donc bien admettre que si les bacilles morveux morts sont rapidement détruits au point de vue morphologique, leurs déchets toxiques persistent néanmoins très longtemps, sans être éliminés, au sein des cellules qui constituent la masse des nodules ou des abcès morveux.

Signalons, pour terminer, ce fait que la nécrose leuco

1. *Ann. Inst. Pasteur*, 1905, p. 699.

cytaire semble provenir de l'action directe des microbes englobés et non pas de l'action des poisons en solution dans le milieu ambiant. En effet cette nécrose, si intense au niveau des points où s'opère la phagocytose (épiploon, amas fibrineux, sinus de la rate), manque absolument chez les leucocytes qui flottent dans le liquide péritonéal, et dont un grand nombre, par contre, contiennent la substance métachromatique signalée plus haut. Or, l'on sait que ce liquide ne contient guère de microbes morts en suspension, ces particules étant rapidement déposées sur les surfaces péritonéales.

5. *Au point de vue hématologique.* — L'intoxication morveuse est caractérisée, au début, par la lymphocytose (grands et petits lymphocytes) du sang. Cette lymphocytose persiste longtemps ; il n'est pas rare de retrouver, 8 semaines après l'inoculation, une proportion de 65 0/0 de lymphocytes.

Pendant les premiers jours qui suivent l'inoculation, il y a un accroissement notable (15-20 0/0) du nombre des éosinophiles vrais. Plus les doses de poison inoculé ont été faibles, plus la lymphocytose tend à faire place à une franche mononucléose. Au début de la maladie il n'est pas rare de trouver, dans le sang, des mononucléaires à vacuoles chargées de débris filamenteux, dans lesquels il est facile de reconnaître des restes de polynucléaires digérés.

Ces quelques observations relatives à l'intoxication produite par voie péritonéale faciliteront l'intelligence des phénomènes que l'on constate à la suite de l'introduction directe, dans les voies digestives, des bacilles morveux tués.

IV

PHÉNOMÈNES TOXIQUES CONSÉCUTIFS A L'INOCULATION INTRASTOMACALE DE BACILLES MORVEUX TUÉS

a) *Étude de quelques symptômes. — Dans les cas de mort rapide* (en moins de 24 heures), les symptômes ne diffèrent guère de ce que l'on observe dans la péritonite toxique : l'animal frissonne, se hérisse, cesse de manger ; 5 heures après l'inoculation, la température tombe à 34-35° et ne se relève plus jusqu'à la mort. L'hypothermie est plus tardive ici que dans la péritonite.

A l'autopsie on trouve l'intestin rempli de liquide, violem-

ment congestionné; des hémorragies existent souvent dans la paroi du cæcum; les follicules clos sont turgescents, énormes, beaucoup plus visibles qu'à l'état normal. Les ganglions mésentériques sont volumineux et hyperhémiés; la rate, le foie également; les capsules surrénales sont d'un rouge sombre; il existe une très légère hyperhémie testiculaire et une violente congestion des centres nerveux. Les poumons sont parsemés de petits foyers de bronchopneumonie; il n'existe aucun épanchement péritonéal; la plèvre et le péricarde contiennent un liquide clair.

Les frottis des ganglions mésentériques, de la rate, des poumons montrent des bacilles morveux assez peu nombreux, libres, colorés en bleu pâle par le mélange de Giemsa. La rate est le siège d'une polynucléose intense; aucun de ces leucocytes ne contient la substance métachromatique décrite dans le chapitre précédent.

Dans les cas d'intoxication chronique l'hypothermie manque; la température s'élève rapidement et atteint en 1-2 jours 40°-40°5. L'amaigrissement est considérable, beaucoup plus considérable que dans la péritonite toxique; l'animal meurt ayant souvent perdu la moitié de son poids initial. Ici l'intoxication spécifique se complique évidemment de troubles digestifs graves; car au moment de leur mort les animaux, qui cependant dans l'intervalle s'étaient remis à manger, ont toujours l'estomac et l'intestin vides.

L'étude du sang, au cours de cette intoxication, nous révèle dès le début une baisse considérable dans le taux des polynucléaires et une augmentation énorme de celui des lymphocytes, qui s'élèvent rapidement à 60 0/0. A mesure que la vie se prolonge, la lymphocytose fait place à la mononucléose vraie, qui au bout de peu de semaines atteint 50 0/0; l'éosinophilie, assez marquée les premiers jours (12 0/0) disparaît bientôt. Quand la cachexie est avancée, on voit apparaître quelques hématies nucléées.

Si nous suivons, dans cet intervalle qui va de l'inoculation à la mort par cachexie, *l'évolution des lésions macroscopiques* révélées par l'autopsie, nous constatons ce qui suit : les deux lésions prédominantes sont l'hypertrophie de la rate et la néphrite épithéliale. Dès la 24e heure la rate est grosse, dure,

peu hyperhémique, avec hypertrophie folliculaire visible; elle atteint vers le 5e jour le maximum de ces dimensions; elle est énorme à ce moment et nous en avons vu qui mesuraient jusqu'à 5 centimètres de longueur. Puis elle décroît de volume et reprend vers la 3e semaine ses dimensions normales. Les reins, très congestionnés au début, sont devenus au bout de quelques jours gros, blancs, flasques; un peu plus tard leur surface se marbre de larges placards jaunâtres; quand la mort survient, au bout d'un mois, il y a un commencement d'atrophie. Les capsules surrénales et les centres nerveux restent longtemps violemment hyperhémiés; les testicules conservent leur aspect normal. Il y a toujours hypertrophie considérable des plaques de Peyer, des ganglions mésentériques et trachéo-bronchiques. Le foie, gros au début, reprend vite sa physionomie habituelle. Dès le lendemain de l'injection, les poumons sont parsemés d'une infinité de petits foyers broncho-pneumoniques, qui en 3-4 jours se transforment en foyers pneumoniques plus étendus. Au bout de 12 jours ces organes sont redevenus normaux. Le cœur, au moment de la mort, est gros et très flasque. Enfin toute atmosphère graisseuse a disparu autour des viscères abdominaux.

On ne constate aucune réaction inflammatoire du côté de la cavité péritonéale; aucune trace d'adhérence ne s'établit entre les viscères de cette région.

Les frottis de ganglions mésentériques faits de 7-24 heures après l'inoculation montrent des bacilles morveux, toujours libres, formant çà et là de petits amas, et se colorant en bleu pâle. *Cette persistance de bacilles bien visibles dans les voies lymphatiques est remarquable lorsqu'on la compare avec la rapidité de la disparition de ces mêmes microorganismes dans le péritoine.* Selon nous le phénomène n'est explicable que par le manque de contact, dans le système lymphatique, entre ces bacilles et les leucocytes polynucléaires ou leurs produits de désagrégation. En effet, les frottis de la rate examinés au même moment ne laissent plus voir de bacilles libres ou colorés en bleu, tandis que les polynucléaires amoncelés dans les sinus spléniques renferment de nombreux bâtonnets ou granulations colorés en rose par l'éosine.

La substance métachromatique verte (après action de la

thionine) décrite dans le chapitre précédent, existe dans la moitié environ des polynucléaires de la rate ou des poumons.

Somme toute, les phénomènes généraux ne diffèrent ici que très peu de ceux que l'on observe dans la péritonite toxique, sauf en ce qui concerne la longue persistance des bacilles dans les voies lymphatiques.

Cette étude nous démontre que les bacilles morveux tués, introduits dans l'intestin, passent dans la circulation générale et arrivent jusqu'au poumon. Nous allons maintenant tâcher de déterminer le mécanisme de cette diffusion.

b) *Mode de pénétration des bacilles morveux tués à travers la paroi intestinale; leur diffusion dans la circulation générale*[1]. — Lorsque l'on examine des coupes de l'intestin grêle chez un cobaye, 7 heures après l'inoculation par voie stomacale, on est frappé d'abord du nombre de leucocytes (polynucléaires et lymphocytes) qui infiltrent la muqueuse; ces éléments sont accumulés dans les lymphatiques centraux des villosités, dans les capillaires sanguins, à la base de l'épithélium; ils s'insinuent activement entre les cellules épithéliales. D'autre part, dans l'ampoule terminale des chylifères centraux, d'énormes macrophages mononucléaires, fort nombreux en ce point, sont bourrés de débris de leucocytes polynucléaires en voie de digestion intracellulaire. A la base de l'épithélium s'est développé un œdème abondant qui distend les mailles conjonctives; cet œdème, lui aussi, est infiltré de cellules migratrices.

Si l'on examine l'épithélium au niveau *du sommet des villosités*, on s'aperçoit que la diapédèse ne s'y effectue pas également sur tous les points; par endroits les cellules épithéliales sont écartées, laissant entre elles de véritables canaux, mesurant plusieurs μ de largeur en certains points; ces canaux règnent tantôt sur une partie de la hauteur des cellules épithéliales adjacentes, tantôt sur leur hauteur entière, établissant ainsi une communication béante entre la cavité intestinale et le tissu conjonctif basal.

L'orifice de ces espaces, vers l'intestin, est coiffé partiellement par les lambeaux du plateau strié déchiqueté. Dans ces passages interépithéliaux des files de cellules migratrices (surtout des lymphocytes) s'engagent et sortent vers la cavité intes-

1. *C. R. Soc. biol.*, 1906. Séance du 15 décembre.

tinale. Quelle est l'origine de ces trajets canaliculaires? Le docteur Weinberg [1] croit depuis longtemps pouvoir affirmer l'existence, à l'état normal, de stomates interépithéliaux mettant en communication l'intestin et le système lymphatique sous-jacent. Peut-être s'agit-il ici de couloirs artificiellement creusés par le passage constant des leucocytes en diapédèse? Dans ce dernier cas, nous aurions affaire à une forme exagérée et béante des espaces que Renaut (de Lyon) a décrit sous le nom de thèques interépithéliales.

Quoi qu'il en soit, c'est par ces espaces interépithéliaux que se fait la pénétration des bacilles morveux morts; on trouve des bacilles morveux isolés, souvent mélangés à d'autres bactéries intestinales, à tous les niveaux des espaces interépithéliaux; ils y pénètrent librement, sans l'intervention des leucocytes et dès lors, il faut bien admettre que c'est en vertu de quelque courant de diffusion du liquide ambiant, se propageant de l'intestin vers la sous-muqueuse; on en trouve également à l'abouchement de ces canaux avec les espaces conjonctifs sous-jacents; on les trouve enfin, irrégulièrement distribués, dans l'œdème sous-épithélial où ils se colorent en bleu pâle par le mélange de Giemsa. A ce niveau commence leur englobement par les leucocytes polynucléaires; à l'intérieur du protoplasma de ces derniers, leur colorabilité se perd très vite et il n'est pas rare de les y rencontrer colorés en rose pâle. Dans les chylifères centraux il est tout à fait exceptionnel d'observer des bacilles morveux libres; ici, le phénomène dominant est la destruction en masse des polynucléaires par les macrophages. Vers la profondeur, au contraire, on retrouve çà et là, dans les espaces lymphatiques distendus de la sous-muqueuse, de petits groupes de bacilles libres, colorés en bleu pâle. Notons, dans ces espaces lymphatiques, l'absence de leucocytes autres que quelques rares lymphocytes, ainsi que l'absence totale de bactéries intestinales (Pl. III, fig. 1). Sur les coupes passant *au niveau des plaques de Peyer* on observe les mêmes phénomènes, mais plus évidents encore : nombreux canaux interépithéliaux, diapédèse très abondante, pénétration de bacilles libres dans ces espaces. Sur toute la hauteur de l'amas lymphoïde, de sa surface épithéliale à la sous-muqueuse, on trouve des chapelets de grands espaces

1. Inédit. Communication orale.

lymphatiques, très dilatés et obstrués en partie par d'énormes macrophages à l'intérieur desquels s'opère une active destruction de leucocytes polynucléaires. Dans les portions de ces lymphatiques non obstruées par le reticulum protoplasmique on trouve, à tous les niveaux, jusque dans le voisinage immédiat de la sous-muqueuse, des bacilles morveux libres. Enfin, à l'intérieur des espaces lymphatiques de la sous-muqueuse, on retrouve ces mêmes microorganismes, bien visibles malgré la faible intensité avec laquelle ils fixent le bleu (Pl. III, fig. 1 bis et 2). Au niveau du cæcum la pénétration s'effectue également, mais à un moindre degré; ici, les bactéries habituelles de la cavité intestinale qui pénètrent sous l'épithélium sont très nombreuses; mais elles sont arrêtées à l'intérieur des grands phagocytes mononucléaires qui abondent à ce niveau. Dans les lymphatiques de la sous-muqueuse on ne retrouve que des bacilles morveux libres.

Il est aisé, d'après cela, de reconstituer la marche des phénomènes : les bacilles morveux, mélangés à d'autres bactéries, traversent l'épithélium en s'engageant dans les espaces interépithéliaux largement ouverts. Les leucocytes ne semblent pas intervenir dans cette pénétration qui est toute passive. L'épithélium franchi, les microorganismes se heurtent à un premier réseau défensif (polynucléaires et macrophages). Un grand nombre sont englobés, et les polynucléaires, plus ou moins malades à la suite de cet englobement, sont rapidement détruits par les macrophages (chylifères centraux, espaces lymphatiques des plaques de Peyer). Mais bon nombre passent et, entraînés par le courant lymphatique, s'accumulent dans les espaces sous-muqueux.

Deux faits intéressants sont à retenir ici : 1° *les bacilles morveux seuls arrivent à la sous-muqueuse; les bactéries intestinales associées restent emprisonnées dans le filtre phagocytaire. Il y a là une sorte d'immunisation locale contre les hôtes habituels de l'intestin;* 2° *les bacilles morveux, qui perdent si rapidement leur colorabilité dans l'intérieur des phagocytes, restent facilement visibles et ne sont pas dissous dans la lymphe privée de cellules.*

Chez un animal sacrifié *24 heures* après l'inoculation, on constate, sur les coupes de l'intestin grêle, une infiltration leucocytaire très abondante de la muqueuse, une destruction de polynu-

cléaires par les macrophages, plus abondante que dans le cas précédent : mais on ne trouve plus, à ce niveau, de bacilles morveux libres.

Au contraire les lymphatiques profonds (réseau sous-péritonéal) présentent à ce moment un aspect très particulier. Ils sont extraordinairement dilatés et forment une vaste nappe, avec, çà et là des étranglements, gorgée de liquides et disposée en manchon autour de l'intestin. Leur endothélium est gonflé, mais, sauf de rares lymphocytes, ils ne contiennent pas de cellules migratrices. Les bacilles morveux y sont, au contraire, assez nombreux par endroits, toujours libres, toujours entiers, et toujours colorés en bleu pâle.

Dans ces lacs lymphatiques s'opère donc une sorte de stagnation des particules entraînées, et cette absence d'action dissolvante de la lymphe est très remarquable quand on songe à la rapidité avec laquelle ces mêmes bacilles morveux disparaissent dans le péritoine au contact des leucocytes immigrés. (Pl. III, fig. 3).

Ces mêmes phénomènes de stagnation s'observent *dans l'épiploon;* ici, en certains points, surtout au voisinage des ganglions mésentériques, on trouve des espaces lymphatiques, littéralement remplis de bacilles morveux libres, que le courant de la lymphe entraîne vers les ganglions.

Dans les ganglions mésentériques examinés 24 heures après l'inoculation, on trouve çà et là, dans les sinus, des bacilles morveux libres et isolés, mais, somme toute, peu abondants; la polynucléose y est à peu près nulle et la destruction des polynucléaires par les macrophages ne semble pas très supérieure à ce qu'elle est en temps normal. Il est certain que le rôle d'arrêt de ces organes est ici tout à fait minime, et bien conforme à ce que Calmette a constaté relativement à la tuberculose d'origine intestinale chez l'adulte.

Cette étude sur le mécanisme du passage des B. morveux tués, à travers la paroi intestinale, concorde en bien des points avec les observations de Vansteenberghe et Sonneville [1] relativement au transport des poussières minérales ; dans le cas des B. morveux, les leucocytes jouent un rôle beaucoup moins grand que dans celui étudié par les auteurs précédents. Les bacilles

1. *Presse médicale*, 1906, p. 509.

morveux phagocytés sont détruits sur place; quant à ceux que l'on retrouve dans les lacs lymphatiques sous-péritonéaux, leur colorabilité si précise ne permet point de supposer qu'ils ont passé par le protoplasma leucocytaire.

Etudions maintenant les phénomènes qui se passent dans la *rate*.

Dès la 7e *heure* on trouve des bacilles morveux dans cet organe, *mais jamais libres*. Toujours ils sont situés à l'intérieur des leucocytes polynucléaires et, pour la plupart, transformés en bâtonnets ou granulations éosinophiles.

Le nombre de leucocytes polynucléaires accumulés à ce moment dans les sinus est formidable ; il concorde avec l'hypo-polynucléose du sang. Une notable quantité de ces leucocytes, chargés ou non de produits microbiens visibles, sont déjà inclus dans les macrophages.

La rate de 24 *heures* est des plus caractéristiques; on y assiste à une double destruction, en masse, de globules rouges et de polynucléaires par les macrophages. Cette destruction de polynucléaires est en très grande partie achevée au bout de 48 heures; à ce moment les macrophages contiennent de grandes vacuoles, à contenu éosinophile, où s'achève la digestion des macrophages. Quant aux bacilles morveux, on n'en retrouve plus trace.

Les bacilles morveux, passés dans la circulation générale, s'arrêtent en partie *dans les poumons* et y déterminent les petits foyers inflammatoires signalés plus haut.

Notons d'abord que dans les poumons de 7 heures, on n'observe aucun processus alvéolaire. A ce moment existe une hyperhémie intense des capillaires alvéolaires; çà et là, à l'intérieur des petites artérioles situées à l'intersection de plusieurs alvéoles, on trouve de petites embolies de polynucléaires et, à l'intérieur de ces éléments, des bacilles morveux éosinophiles, d'ailleurs assez rares.

Les espaces lymphatiques des parois alvéolaires présentent un aspect fort curieux; ils sont distendus, régulièrement arrondis ; leur lumière est, le plus souvent, obstruée par un réseau protoplasmique disposé radiairement autour d'un noyau excentrique et qui semble appartenir à l'endothélium propre du lymphatique. Cette éponge protoplasmique ne contient pas de

débris cellulaires ou microbiens; peut-être faut-il y voir l'expression d'une réaction des cellules endothéliales vis-à-vis des poisons circulants. (Pl. III, fig. 4.)

Dans les poumons de 24 heures, le phénomène le plus caractéristique est la constitution, à l'intérieur des petits vaisseaux sanguins, de plasmodia à mononucléaires à l'intérieur desquels se détruisent les embolies signalées plus haut et qui contiennent également quelques microbes colorables par l'éosine, entiers ou granuleux. (Pl. III, fig. 5.)

A ce stade l'on constate des épanchements sanguins dans certaines alvéoles, avec un début de processus pneumonique.

c) *Modifications ultérieures des organes lymphoïdes.* — L'intoxication chronique par les bacilles morveux tués introduits dans l'intestin détermine une énorme surproduction cellulaire dans les organes lymphoïdes (rate, moelle des os, ganglions). L'étude de la rate est ici particulièrement intéressante.

Au début il y a, dans les lacunes spléniques, accumulation des leucocytes polynucléaires du sang, englobement par ces éléments des bacilles morveux, transformation rapide en grains éosinophiles de ces bacilles dans le protoplasma leucocytaire, enfin destruction en masse de ces polynucléaires par les grands macrophages des lacunes. Dans les vacuoles digestives des macrophages les cellules englobées se dissolvent rapidement et les vacuoles restent remplies d'un liquide assez homogène d'aspect, à réaction éosinophile.

Notons le fait de la persistance très prolongée de ces vacuoles; on les retrouve encore 2 semaines après l'inoculation, alors que la destruction des polynucléaires a cessé depuis longtemps.

Elles semblent renfermer quelque substance indigeste, peut-être d'origine microbienne, que le protoplasma ne parvient point à élaborer.

Dès le 2e jour commence, au niveau des follicules de Malpighi, une formidable surproduction de mononucléaires; les éléments adultes remplissent les sinus lymphatiques périglomérulaires, envahissent et distendent les lacunes, tandis que dans les follicules la multiplication des éléments jeunes s'opère rapidement. De la sorte, dès le 5e jour, toute ligne de démarcation entre les follicules, les cordons et les sinus a disparu;

on ne voit plus qu'une nappe cellulaire continue, composée de mononucléaires de tout âge qui sont évidemment déversés, au fur et à mesure, dans le sang. En même temps, apparaissent des éléments à gros noyau bourgeonnant, identiques aux mégakaryocytes de la moelle osseuse, ainsi que des normoblastes qui deviennent de plus en plus nombreux et atteignent vers le 20e jour le maximum de leur production.

Pendant tout ce temps les macrophages adultes sont le siège d'une perpétuelle et abondante destruction de globules rouges.

A la mort de l'animal, vers la 7e semaine, les mégakaryocytes ont disparu; la surproduction de mononucléaires a diminué, mais les amas lymphoïdes n'ont pas repris leur individualité.

L'intoxication morveuse provoque donc dans la rate, à côté de la surproduction de mononucléaires, une transformation myéloïde de l'organe, incomplète d'ailleurs, car la production de polynucléaires semble y faire totalement défaut.

Cette surproduction de polynucléaires neutrophiles s'accomplit pendant ce temps dans la moelle osseuse : dès le 5e jour les aréoles s'effacent presque complètement ; les espaces nodaux prennent un développement considérable et se remplissent de mégakaryocytes et de myélocytes neutrophiles. Quand à la production de normoblastes, si abondante à ce moment dans la rate, elle ne semble pas être, dans la moelle osseuse, supérieure à la normale.

Enfin les ganglions lymphatiques sont le siège d'une active surproduction de macrophages qui viennent remplir, au point de les effacer, les grandes lacunes du tissu caverneux.

V

CONCLUSIONS

1° Les bacilles morveux tués sont toxiques et provoquent, chez le cobaye, une maladie plus ou moins rapidement mortelle dont les symptômes généraux sont les mêmes, que l'inoculation ait eu lieu par la voie péritonéale ou par la voie intestinale.

Ces symptômes sont l'hypothermie initiale, l'amaigrissement, la dégénérescence de l'épithélium rénal et de la fibre cardiaque, la nécrose aiguë des leucocytes polynucléaires ayant englobé

des bacilles, la production dans le protoplasma des polynucléaires plus résistants d'une substance amorphe qui se colore en vert vif par la thionine, la caséification des nodules morveux, l'hypertrophie des organes lymphoïdes avec transformation myéloïde de la rate, la mononucléose du sang;

2° La destruction des bacilles morveux morts est extrêmement rapide. Contrairement à ce qui se passe avec les bacilles tuberculeux dégraissés, le protoplasma des phagocytes leur fait perdre en très peu d'heures la propriété de fixer les couleurs basiques d'aniline: ils persistent quelque temps sous forme de granulations éosinophiles, mais deviennent complètement invisibles au bout de 1-2 jours. Quant à leurs produits de désagrégation, ils ne sont détruits que fort lentement dans le protoplasma des macrophages (nodules caséeux de l'épiploon, vacuoles intracellulaires persistantes des sinus spléniques). La lymphe privée de cellules migratrices ne les altère point;

3° La pénétration des bacilles morveux morts, à travers la paroi intestinale, se fait surtout au niveau de l'iléon et du cæcum. Ils s'insinuent entre les cellules épithéliales écartées, sans que les leucocytes semblent intervenir dans ce phénomène; ceux qui échappent au filtre phagocytaire sous-épithélial parviennent dans la lymphe qui les entraîne intacts, jusque dans la circulation sanguine; là ils sont arrêtés dans la rate et les petits vaisseaux du poumon où leur destruction s'achève finalement à l'intérieur des macrophages.

Les trypanosomiases animales au Sénégal

Par M. THIROUX et M. TEPPAZ

Médecin-major de 1re classe des troupes coloniales, directeur du laboratoire de bactériologie de St-Louis.

Vétérinaire en second hors cadres au service de l'agriculture.

(Avec la planche IV.)

(Travail du Laboratoire de Bactériologie de St-Louis (Sénégal).

Les trypanosomiases animales dans l'Ouest Africain ont été, jusqu'à ce jour, surtout étudiées en Gambie anglaise par Dutton et Todd, au Soudan par Cazalbou et Pécaud et tout dernièrement en Guinée par Martin [1].

Bien qu'il fût pourvu d'un laboratoire depuis plus de dix ans, le Sénégal restait le moins bien renseigné au milieu de ces colonies. Quoique peu nombreux, les points infectés de son territoire n'en étaient pas moins intéressants à connaître. Aussi avons-nous entrepris cette étude au laboratoire de Saint-Louis.

TRYPANOSOMIASE DES CHEVAUX DE GAMBIE

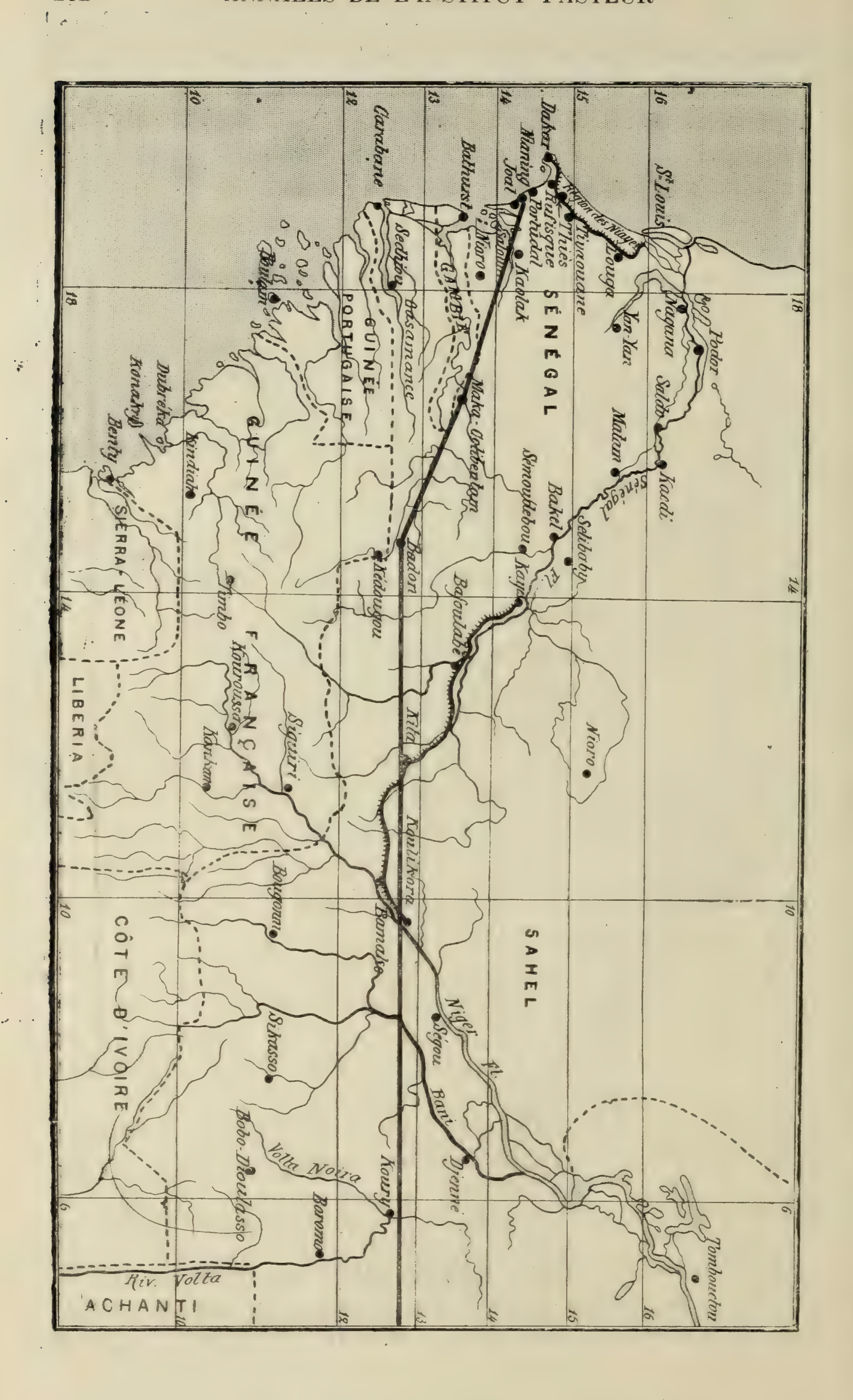
Cette affection, étudiée en 1902 dans la Gambie anglaise par Dutton et Todd qui l'ont retrouvée au Sénégal sur la frontière de Gambie, à Maka-Colibentam, n'avait pas encore été signalée au nord de cette localité, tandis qu'au contraire les travaux de Martin prouvent qu'elle s'étend au sud, dans toute la Guinée, et probablement au delà.

Les mouches tsétsé remontant cependant au Sénégal jusqu'à la latitude de Rufisque, il n'y avait rien d'étonnant à ce qu'on pût rencontrer dans ces régions les trypanosomiases à tsétsé, tandis qu'au nord, avec les tabanides, on devait retrouver le Surra et les trypanosomiases du Sud-Algérien.

Nianing, où nous avons observé la trypanosomiase des chevaux de Gambie, et Rufisque, où nous avons recueilli quelques *Glossina palpalis*, se trouvent entre 14°5 et 15° de latitude nord.

Nous pensons que la trypanosomiase des chevaux de Gambie peut remonter au-dessus de Dakar dans les régions

1. Martin. *Trypanosomiases de la Guinée française*. Paris, Maloine, 1906.


St Louis
Dakar
Rufisque
Thiès
Portudal
Joal
Bathurst
Louga
Kaolak
SÉNÉGAL
GAMBIE
Carabane
Sedhiou
Casamance
GUINÉE
PORTUGAISE
Podor
Salde
Matam
Kaedi
Bakel
Kayes
Bafoulabé
Kita
Koulikoro
Bamako
Ségou
Djenne
Tombouctou
Niger
Bani
SAHEL
Nioro
GUINÉE
FRANÇAISE
Konakry
Timbo
Siguiri
Kouroussa
Kankan
Bougouni
Sikasso
Bobo-Dioulasso
Koury
Volta Noire
SIERRA LÉONE
LIBERIA
CÔTE D'IVOIRE
Riv. Volta
ACHANTI

marécageuses qui bordent la côte et qui portent le nom de Niayes jusque vers 15°5, à moitié chemin de Dakar et de Saint-Louis, mais ce serait son extrême limite et c'est un point à vérifier.

Nous verrons plus loin que dans l'intérieur des terres la limite des tsétsé et de *Trypanosoma dimorphon* remonte un peu



moins haut vers le nord, cette limite décrivant, en quelque sorte, une courbe à convexité dirigée vers l'équateur.

TRYPANOSOMIASE DES CHEVAUX DE GAMBIE DANS LA RÉGION DE NIANING

Nianing est une petite localité située sur ce qu'on appelle la petite côte, partie du littoral s'étendant, au sud de Dakar, entre le cap Vert et la rivière Saloum. L'affection y sévit

plutôt sous forme enzootique que sous forme épizootique et est localisée dans une région bien déterminée de la petite côte, ainsi que l'indique la carte. Cette région est délimitée par une demi-circonférence ayant Nianing pour centre, comprenant les villages de M'bour et Amboline, et laissant en dehors et parfaitement indemnes les villages de N'Gazobil, Salé, Popon-Guine, Joal, N'Gaparou, Khabane, Sarem, etc. Dans ces dernières régions les animaux vivent bien; les chevaux infectés à Nianing, que l'on transporte à Joal, ne benéficient d'aucune amélioration, ils meurent aussi rapidement, mais ne transmettent jamais la maladie aux chevaux de Joal.

Ainsi que cela a déjà été constaté en maint endroit, la maladie du sommeil se rencontre chez l'homme dans la même région; elle y a exercé, il y a quelques années, de terribles ravages; elle y semble actuellement en décroissance, quoiqu'on en observe encore quelques cas.

La maladie des chevaux passe pour avoir existé de tout temps, disent les uns, depuis plus de 20 ans, disent les autres, mais il est impossible de savoir à quelle époque elle a apparu dans le pays. On en retrouve cependant la trace dans le passage suivant d'un vieil ouvrage sur le Sénégal datant de 1853 [1]. Il s'agit non plus de Nianing, mais d'une localité très voisine, située un peu au sud, et il est possible que l'affection se soit déplacée avec les *fly-belts*.

« Je m'arrêtai devant Fadiouth pour en prendre la vue. C'est un grand village entouré d'arbres touffus... A l'est du village, au milieu des bois, est encore un *canari* (lieu habité par les génies) très redouté. Le génie invisible, qui y préside, fait mourir subitement les chevaux qui y passent. On est même obligé de quitter ses souliers et de passer en silence. Par crainte de ce terrible génie, les *thiedosou*, soldats du *demel* et du *tègne*, n'attaquent jamais ce village, l'un des plus riches et des plus heureux du royaume du Sine. »

La maladie du sommeil aurait, d'après quelques-uns, été importée en 1875 par les Sossès, qui ont émigré dans le pays; mais il est beaucoup plus probable qu'elle y existait bien avant cette date et que son apparition est contemporaine de celle

1. *Esquisses sénégalaises*, par l'abbé P.-H. Boilot (Paris, Bertrand, 1853, p. 176, 177).

des tsétsé et de la trypanosomiase des chevaux de Gambie.

La région infectée par *Tr. dimorphon* est très boisée et très humide pendant l'hivernage ou saison des pluies; quelques marigots renferment encore de l'eau au mois de mars.

On y remarque beaucoup de mouches, qui tourmentent les animaux, surtout quand ceux-ci sont sous les arbres.

Les mouches piquantes sont beaucoup plus nombreuses en hivernage et on a même pu, ainsi que cela avait été déjà signalé par différents auteurs, récolter des tsétsé et des tabanides jusque dans les habitations et en particulier dans la résidence.

Les nombreux échantillons que nous avons pu récolter et que M. Laveran et M. Surcouf ont bien voulu déterminer appartiennent aux espèces suivantes :

Glossina palpalis. — *G. longipalpis.* — *Lyperosia longipalpis.* — *L. Thirouxi* (Roubaud). — *Stomoxys calcitrans.*

Tabanus biguttatus (Fab). — *T. Sufis.* — *T. ditænatus* (Macq).

Deux espèces d'*Hæmatopota* (*sp.* ?).

Et de nombreuses variétés d'hippobosques.

Les animaux atteints par la trypanosomiase des chevaux de Gambie, chevaux, ânes, mulets, présentent des symptômes constants. Au début de la maladie, on observe une certaine mollesse, les animaux sont paresseux, insensibles au fouet et indifférents aux piqûres des insectes; le rein ne fléchit presque pas au pincement, l'appétit est conservé et la respiration normale.

Dans la seconde période, les forces décroissent rapidement, l'amaigrissement est très marqué, bien que l'appétit soit conservé, les muqueuses apparentes sont pâles et exsangues. Les larmes s'écoulent abondamment des paupières et quelques sujets présentent de la cataracte mono ou bi-oculaire.

Le rein est tantôt insensible, tantôt très sensible. Les bourses sont relâchées, peu ou pas œdémaciées, insensibles aux piqûres d'épingle. Le pénis est à demi pendant. Les membres sont souvent engorgés, mais ce symptôme n'est constant que pendant les 3 ou 4 derniers jours de la maladie.

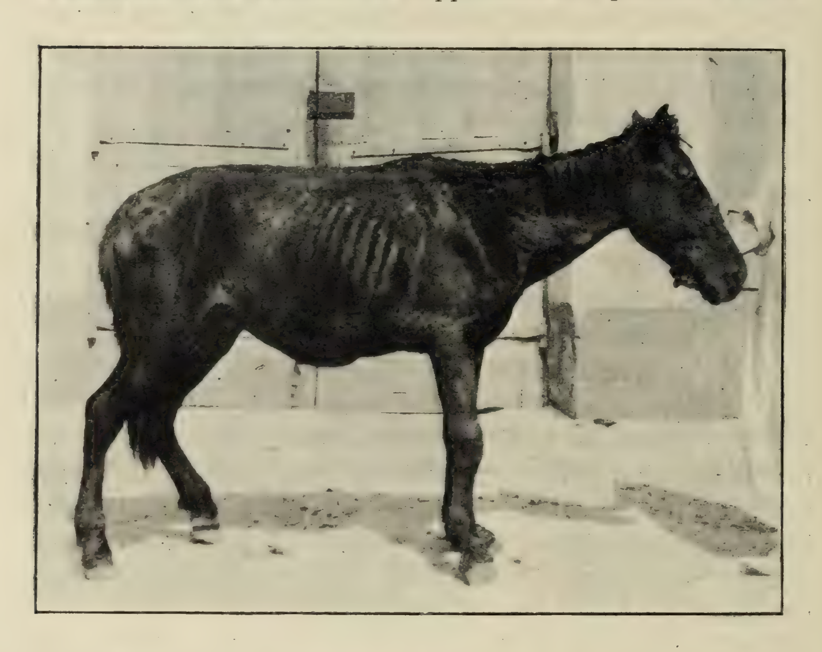
On constate du vacillement de l'arrière-main et quelquefois une boiterie de la hanche.

Dans la dernière période, les animaux sont efflanqués et d'une maigreur excessive (fig. ci-jointe). L'appétit est un peu

diminué, l'arrière-main est de plus en plus faible; les animaux chancellent sous la poussée de la main et tombent fréquemment. La paralysie postérieure progresse et l'animal meurt dans le coma.

Les ganglions de l'aine sont quelquefois hypertrophiés et, dans un cas, nous avons pu constater la présence de *Trypanosoma dimorphon* dans la lymphe retirée de ces ganglions.

La durée de la maladie, de l'apparition des premiers symp-



tômes à la mort, est très variable : 4, 8, 30 jours et quelquefois 1 mois, exceptionnellement 3 mois. L'évolution semble plus rapide chez l'âne que chez le cheval.

Les espèces animales sensibles sont, par ordre de fréquence décroissante : les chevaux, les ânes, les mulets, les chiens. Il n'y a pas de bœufs ni de moutons dans la région infectée. Les chèvres paraissent réfractaires à l'infection naturelle, elles vivent très bien à Nianing.

L'autopsie d'un cheval, mort à la résidence, pratiquée immédiatement après la mort, permet de constater l'anémie profonde du sujet : les organes de la cavité thoracique et de l'abdomen sont exsangues. Le sang qui reste dans le cœur, arrêté en diastole, est rouge vineux, liquide, légèrement poisseux et coagule

très lentement à l'air, sans changer de couleur. On ne constate aucune lésion notable des organes respiratoires, digestifs et urinaires, non plus que du foie ou de la rate.

Nous ne nous attarderons pas à décrire très minutieusement *Tr. dimorphon* que de nombreux travaux antérieurs ont suffisamment fait connaître. Nous signalerons cependant que nos observations ayant porté sur un parasite n'ayant pas fait de nombreux passages dans les laboratoires, nous avons pu retrouver les 3 formes décrites par Dutton et Todd [1]. On sait en effet que ces formes se réduisent rapidement à deux dans les virus entretenus dans les laboratoires. Nous avons donc observé la grande forme longue et effilée, avec flagelle libre, décrite par les auteurs anglais.

La partie libre du flagelle peut être plus ou moins développée et le parasite plus ou moins étroit (Pl. IV, fig. 1, 2, 7). Nous avons de plus observé une forme effilée aux deux extrémités, présentant une largeur absolument inusitée 5 µ 5, membrane ondulante comprise (fig. 3). Cette forme est très rare dans les préparations. Nous avons également observé des trypanosomes réduits à leur centrosome et à leur flagelle (fig. 7.) Ce sont là, sans doute, des résidus de parasites. Les formes les plus communes sont les formes moyennes à extrémité postérieure arrondie, mais on se tromperait étrangement en limitant à 2 ou à 3 types bien tranchés les figures qui représentent le parasite. On trouve en effet tous les degrés de transition entre les grandes formes et les petites dans le sens de la longueur, ainsi qu'entre les formes étroites, les formes larges et les formes en têtard.

Tr. dimorphon est un parasite essentiellement polymorphe. Nous avons réuni dans la planche IV quelques-uns des types que l'on peut rencontrer dans une préparation.

La multiplication se fait par division longitudinale en deux, plus rarement en 3; elle débute soit par le noyau (fig. 9, 10), soit par le centrosome et le flagelle.

Contrairement à ce qui a été avancé par différents auteurs [2], nous avons, comme Dutton et Todd [3], très souvent observé des granulations protoplasmiques dans les parasites de Nianing et nous ne pensons pas que l'absence de ces granulations puisse

1. Dutton et Todd, *Trypanosomiasis exped. to Senegambia*, 1902. Liverpool. 1903.
2. Laveran et Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris (1904).
3. Dutton et Todd, *Loc. cit.* p. 37.

demeurer un caractère distinctif de *Tr. dimorphon*, qui d'ailleurs est bien caractérisée par la variété de ses formes [1].

Il est très fréquent d'observer l'agglutination des parasites dans le sang des animaux infectés (fig. 11, 12, 13).

Nous avons trouvé, dans une préparation, de petits corps réniformes, de 5 μ de long sur 1 μ 5 de large, pourvus d'un noyau et groupés en amas (fig. 14). Le cheval chez lequel ces éléments ont été trouvés est mort de la trypanosomiase des chevaux de Gambie, sans que nous ayons pu éclaircir la question, et ces corps n'ont jamais été retrouvés dans le sang des chiens et des rats inoculés expérimentalement.

Nous avons enfin souvent retrouvé, chez les chevaux atteints, des formes endoglobulaires ressemblant à celles qui ont été décrites pas Nissle [2] chez les rats naganés et traités par des cultures de *Bacillus prodigiosus*, et par Wendelstadt et Fellner [3] chez les animaux inoculés de Nagana et traités par le vert brillant et l'arsenic. Ces derniers auteurs les comparent aux corps de Leishman-Donovan. On voit en effet, dans certains mononucléaires, de petits corps pourvus d'un noyau, et quelquefois d'un centrosome (fig. 15 et 16), mais ce ne sont que des parasites, dont la digestion par les macrophages est commencée; la preuve nous en a été fournie par l'examen d'un mononucléaire, qui ne contient plus qu'une partie d'un flagelle avec un centrosome (fig. 17). La digestion terminée, le leucocyte se montre rempli de granulations protoplasmiques (fig. 18).

Nous ne nous étendrons pas plus longuement sur la morphologie de *Tr. dimorphon* qui a déjà été décrite à plusieurs reprises, nous avons cru simplement devoir signaler ce qui nous avait paru un peu original dans nos observations.

Inoculations expérimentales. — *Tr. dimorphon* a pu être inoculé positivement au chien et au rat. On observe chez ce parasite des races de virulence plus ou moins grande. C'est ainsi que la race isolée à Nianing tue régulièrement le chien en 15 jours, tandis que la race isolée à Bakel le tue très irrégulièrement et que cette

1. Ce travail était déjà en voie d'impression quand M. Laveran a décrit, sous le nom de *Tr. Pecaudi*, un trypanosome voisin de *Tr. dimorphon* (Acad. des Sc., 4 fév. 1907).

2. Nissle, *Zür Kenntniss der Nagana und Rattentrypanosomen. Hyg. Rundschau.*, t. XIV, 1er nov. 1904, p. 1039-1041.

3. Wendelstadt et Fellner, *Ueber die Tierwirkong von Brillantgrün auf Naganatrypanosomen. Zeitschr. f. Hyg.*, t. LVI, fév. 1906, p. 263-281.

race a fini par être perdue après quelques passages, à cause de sa faible virulence.

TRYPANOSOMA DIMORPHON DANS LA RÉGION DE BAKEL

Au mois de septembre 1906, M. Teppaz a été appelé à déterminer à Bakel la nature d'une affection sévissant sur un certain nombre de chevaux du poste et présentant les caractères d'une trypanosomiase.

L'examen, fait sur place, du sang d'un cheval malade et les préparations obtenues des chiens inoculés, qu'il a ramenés au laboratoire, permet de se rendre compte que l'on a affaire à la trypanosomiase des chevaux de Gambie.

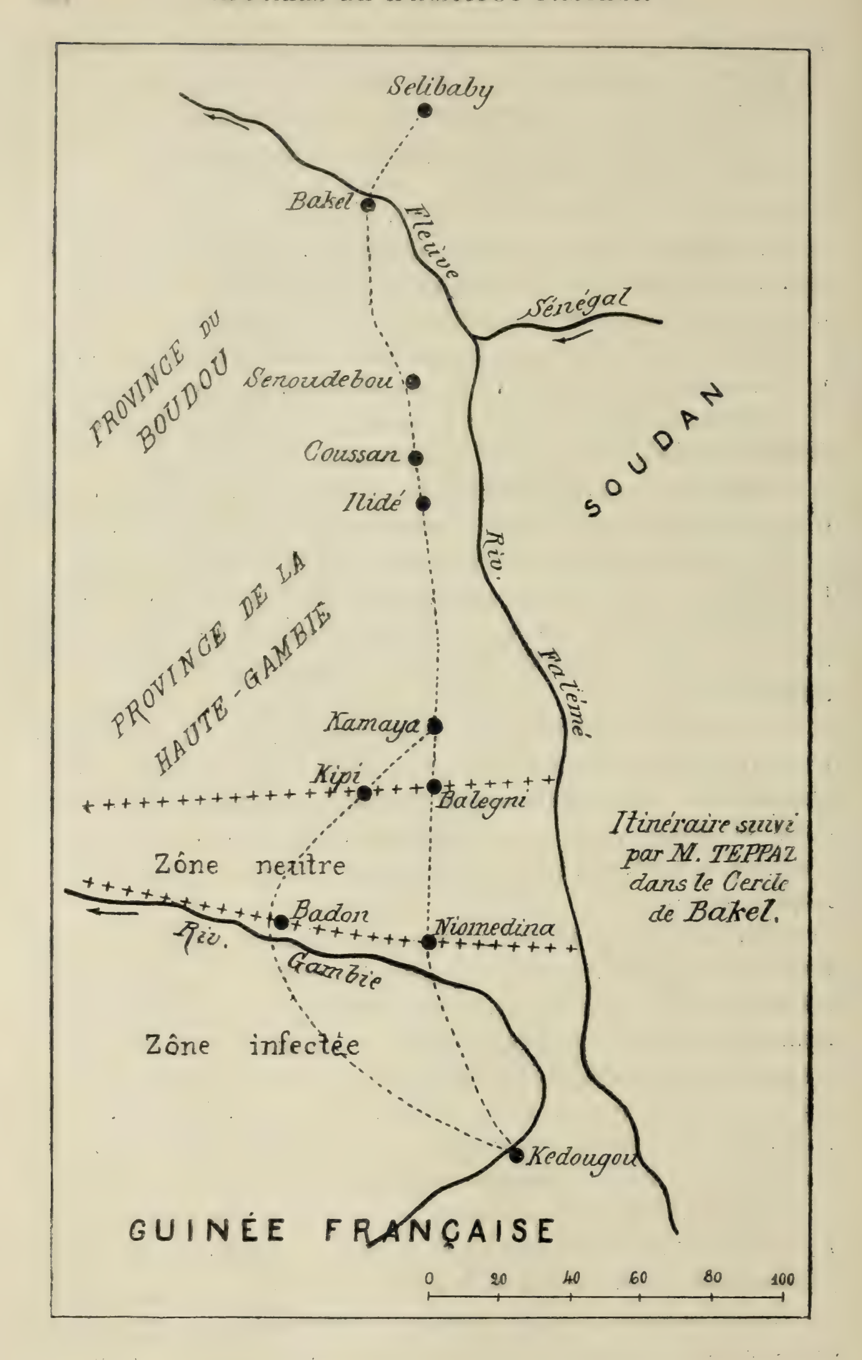
Cependant une enquête très sérieuse, faite à Bakel et au cours d'une tournée dans le cercle, a appris à M. Teppaz que la maladie n'existait pas dans la vallée du Sénégal et qu'elle ne se déclarait à Bakel que chez les chevaux qui avaient été envoyés en tournée dans les postes de Badon et de Kédougou, situés sur la haute Gambie, au sud de Bakel, entre le 13e et le 14e degré de latitude nord.

Le fait est tellement net, que l'administrateur de Bakel avait déjà renoncé de lui-même à envoyer ses chevaux dans les postes de la haute Gambie. Il avait commencé à en louer dans le pays, mais les indigènes n'ont pas tardé à leur tour à refuser d'envoyer leurs chevaux dans la zone dangereuse.

La région infectée comprend tout le bassin supérieur de la Gambie française, qui fait partie du cercle de Bakel. Ses limites sont peu précises. Tous les terrains boisés, bas et humides sont suspects et dangereux. Cette région est limitée au nord par une zone désertique de petite brousse, large d'environ 50 kilomètres, s'étendant de Niomedina à Balegni. Cette zone, qui ne renferme pas d'animaux, sépare assez nettement les régions indemnes des régions infectées.

Toute la partie nord, jusqu'au Sénégal, est indemne; on n'y a jamais constaté de cas de trypanosomiase. La carte ci-jointe donne une idée générale de la zone infectée.

Nous pensons que les cas de trypanosomiase, dus à *Tr. dimorphon*, qui ont été signalés dans la vallée du bas Sénégal


Selibaby
Bakel
Fleuve
Sénégal
PROVINCE DU BOUDOU
Senoudebou
Coussan
Ilidé
SOUDAN
Riv.
Falémé
PROVINCE DE LA HAUTE-GAMBIE
Kamaya
Kipi
Balegni
Zône neutre
Badon
Niomedina
Riv.
Gambie
Zône infectée
Kedougou
GUINÉE FRANÇAISE
Itinéraire suivi par M. TEPPAZ dans le Cercle de Bakel.
0 20 40 60 80 100

et au-dessous de Kayes, sont des cas importés et n'ayant pas formé foyer, par suite de l'absence en ces régions des mouches tsétsé. Par contre les tabanides, *Lyperosia Thirouxi* et *longipalpis*, les stomoxys et les hippobosques y abondent, ce qui donne à penser que seules les *Glossina* peuvent convoyer *Tr. dimorphon*.

Les animaux venant du bassin du bas Sénégal et pénétrant en Guinée n'y importent donc pas *Tr. dimorphon*, à moins qu'ils ne contractent la maladie en route en passant par les vallées de la Gambie et de la Casamance, qui sont les véritables réservoirs de l'affection et dans lesquelles les chevaux ne peuvent pas vivre.

Le cheval que Martin [1] a reconnu infecté à Konakry, venant de Matam (sur le Sénégal et au nord de Bakel), où il avait vécu 2 ans, « avait marché tout un mois jusqu'à Bandioulou (Gambie) où il avait été embarqué pour Konakry ».

On peut donc admettre que, dans la vallée du bas Sénégal, la trypanosomiase des chevaux de Gambie n'existe pas à l'état endémique et que les cas qui y sont observés sont importés du sud. La ligne qui limite la zone de distribution de cette affection semble partir de Nianing (14°5), et peut-être d'un peu plus au nord, sur la côte, pour s'infléchir jusque au-dessous de 13° dans l'intérieur, au niveau de Badon et de Kédougou, et dans la haute vallée du Bani et de la Volta.

Il ne faudrait pas croire, cependant, que l'endémie règne dans tout le territoire situé au-dessous de cette ligne. Alors qu'elle semble couvrir à peu près tout le pays en Guinée, en Casamance et en Gambie, au sud du fleuve Sénégal, pays beaucoup plus sec, pays de sables, et dans les régions limites de son aire, elle ne se retrouve que dans les points marécageux, humides et boisés, y formant alors de véritables *fly-belts*, quelquefois très éloignés les uns des autres.

LE SURRA OU M'BORI OBSERVÉ SUR LES DROMADAIRES DE LA RIVE DROITE DU SÉNÉGAL

Profitant de son séjour à Bakel, M. Teppaz est allé visiter, en face de cette résidence, le poste de Selibaby, où on lui avait signalé que des dromadaires étaient malades. Il a observé, dans le sang de ces animaux, un trypanosome fin et délié,

1. MARTIN, *loc. cit.*, p. 14-15.

absolument semblable à celui décrit par Cazalbou dans la M'Bori et identifié par Laveran [1] avec *Tr. Evansi*. Les chiens inoculés, ramenés au laboratoire, nous ont permis d'obtenir des préparations colorées d'après lesquelles M. le professeur Laveran a bien voulu confirmer notre diagnostic.

Cazalbou a rencontré la M'Bori dans la région située au nord de Tombouctou, elle existe dans tout le Sahel. Nous la retrouvons sur la rive droite du Sénégal et nous pensons que c'est cette affection qui décime les dromadaires en Mauritanie.

Le cours des fleuves, et celui du Sénégal tout particulièrement, serait funeste aux dromadaires. Les animaux viennent dans le bas Sénégal pendant la bonne saison, au moment de la traite des arachides. Ils transportent les graines oléagineuses jusqu'aux gares du chemin de fer les plus proches. Ils retournent en Mauritanie avant les premières pluies, et s'éloignent du cours du fleuve, pour se refugier pendant la saison chaude et pluvieuse sur les plateaux du Tagant. Ce sont, on le voit, les mêmes mesures qui ont été prises par les indigènes dans le Sud-Algérien contre le Debab. Bien plus, les dromadaires, qui ont séjourné un certain temps dans le bas Sénégal prennent, dit-on, une certaine immunité : on les nomme *chameaux ouoloffs* et ils acquièrent une grande valeur, comme en Egypte les dromadaires qui passent pour avoir l'immunité contre le Debab et qu'on appelle *beatiq-el-debeh* (préservés de la mouche). Comme le Debab, la M'Bori ne s'observe à Selibaby que sur les dromadaires. Les bœufs, les chevaux, les moutons, les chèvres n'en sont pas atteints.

Avec les frères Sergent [2], nous pensons que ces deux affections sont très voisines sinon identiques, et que, sur la côte occidentale d'Afrique, la limite entre le Surra, trypanosomiase du nord à Tabanides ou à Stomoxys, et les trypanosomiases du sud à tsétsé, est formée par le fleuve Sénégal. Il ne séjourne jamais pendant toute l'année de chameaux sur la rive gauche du fleuve, ce qui fait qu'en dehors des animaux qui meurent au moment de la traite des arachides, on n'observe pas la M'Bori dans la colonie, mais il y a tout lieu de penser, puisque le

1. LAVERAN, De l'identité du Surra et de la Mbori. *C. R. A. des Sciences*, 26 décembre 1905.

2. EDMOND et ETIENNE SERGENT, El-Debab. Trypanosomiase des dromadaires de l'Afrique du nord. *Ann. de l'Institut Pasteur*, janvier 1905, p. 17.

voisinage du fleuve est reconnu pour être dangereux, que la limite de la zone d'endémicité de la M'Bori pourrait se prolonger au sud du fleuve jusqu'au 14e ou 15e degré de latitude nord, limite des tsétsé et des trypanosomiases à glossines.

Nous n'avons récolté à Selibaby que 2 espèces de tabanides : *Tabanus tæniola*, *T. ditæniatus* et des hippobosques.

LÉGENDE DE LA PLANCHE IV

Trypanosoma dimorphon.

Fig. 1 et 2. — Formes longues et effilées avec flagelle libre plus ou moins long.

Fig. 3. — Forme très large effilée aux deux extrémités.

Fig. 4-5-6. — Formes tronquées à la partie postérieure ou en têtard de tailles très diverses.

Fig. 7. — Un parasite réduit à son centrosome et à son flagelle.

Fig. 8-9-10. — Formes de division.

Fig. 11-12-13. — Agglutination.

Fig. 14. — Corps réniformes de nature inconnue.

Fig. 15-16. — Parasites englobés dans des mononucléaires.

Fig. 17. — Un centrosome et une partie d'un flagelle dans un mononucléaire.

Fig. 18. — Un mononucléaire après digestion d'un parasite, ne renfermant plus que des granulations protoplasmiques.

Sur un Hémocytozoaire d'un Cheiroptère.

Par le Dr J. J. VASSAL
MÉDECIN-MAJOR DES TROUPES COLONIALES.

(Avec la planche V)

J'ai pu examiner à Nhatrang (Annam), en 1904 et 1905, divers lots de chauves-souris, capturées dans les environs. Elles appartenaient à quatre espèces différentes : *Cynopterus marginatus, Scotophilus kuhli, Kerivoula picta, Vesperugo abramus*[1]. Ces deux dernières n'étaient représentées que par un spécimen unique, tandis que les autres en comptaient un grand nombre.

Chez un *Vesperugo*, espèce voisine de *V. abramus*, qui provenait d'une pagode bouddhique de la ville même de Nhatrang, l'analyse histologique du sang m'a permis de relever les particularités suivantes :

A l'état frais, entre lame et lamelle, on distingue, parmi les globules du sang, des éléments extraglobulaires, sphériques, réfringents, de 8 μ, 5 à 9 μ de diamètre, renfermant des grains de pigment mélanique très mobiles. Quand ils sont pressés par les hématies, ils peuvent prendre une forme ovoïde, mais cela ne constitue qu'une déformation accidentelle. La répartition du pigment est tantôt régulière dans le cytoplasme, tantôt en amas. Les grains sont gros et très noirs. Nous n'avons pas vu se produire de flagelles (microgamètes) dans nos préparations. Les hématies n'étaient point parasitées, pas plus que les leucocytes.

Une coloration au Romanowsky (suivant la formule de l'École de Liverpool) ne laisse aucun doute sur la nature de ces éléments. Il s'agit bien de gamètes mâles et femelles. Les gamètes femelles ont un protoplasme très chromophile, qui se colore en bleu violacé. Le noyau est arrondi ou peu irrégulier, petit, compact, généralement périphérique : il se teint en rouge rubis. Le pigment est disséminé avec une certaine régularité ; il est composé de fins bâtonnets (Pl. V, fig. 5).

Les gamètes mâles apparaissent d'une teinte générale rose violacé sur le fond bleu gris des globules rouges. Le noyau,

1. Je dois ces déterminations à M. O. Thomas, du *British Museum*, de Londres.

toujours volumineux, à contours mal délimités, est de la même couleur, mais d'un ton plus sombre, d'un lilas plus intense. Il occupe une position variable, rarement centrale, plutôt transversale, ou en calotte (fig. 6).

La zone protoplasmique qui entoure immédiatement le noyau est particulièrement chromophile ; on y distingue même de très fins granules chromatiques, qui ont peut-être la valeur de chromidies. Dans cette zone, une boule chromatique tranche par ses contours nettement arrondis et sa forte chromaticité. Il n'existe rien de semblable chez les femelles. Elle mesure 1 μ environ et se colore en rose violacé, comme la chromatine nucléaire (fig. 6). Il est difficile d'assigner à ce corpuscule son rôle exact, dans cette étude préliminaire, où nous n'avons eu affaire qu'à des formes sexuées, au même stade de développement. Néanmoins il était important d'en signaler la présence. Les grains du pigment se placent sans aucune symétrie dans le protoplasme ; ils forment le plus communément un amas aux tendances excentriques. Nous n'avons pas distingué de vacuoles, pas plus chez les macrogamètes que chez les microgamétocytes.

On comptait un gamète par 6-8 champs de microscope. La proportion des gamètes femelles aux gamètes mâles était de 1 à 3 environ.

Notre chauve-souris fut examinée pour la première fois le 28 mars 1905, c'est-à-dire au cours de la saison sèche, probablement en période de sommeil hivernal. Elle vécut en captivité 3 jours, pendant lesquels on renouvela les examens hématologiques. Ce furent les mêmes hématozoaires sexués qui se présentèrent avec la même fréquence. L'autopsie n'apprit rien de particulier. Pas plus dans le sang que dans la moelle des os ou dans la rate, on ne trouva de formes sexuées différentes.

Les schizontes firent complètement défaut. Nous n'avons pu mettre en évidence ni grains de Schüffner ni grains analogues.

Le sang offrait d'ailleurs des particularités qui ont déjà arrêté certains observateurs, au cours de l'étude des hématozoaires des chauves-souris. Des hématies, sans présenter de déformations spéciales ni de dimensions inaccoutumées, se teignaient plus fortement que les autres par la méthode de Romanowsky, de telle sorte qu'elles tranchaient sur l'ensemble

bleu grisâtre. Leur ton était bleu plus ou moins effacé. Tantôt leur cytoplasme semblait d'une composition homogène et d'une plasticité uniforme, tantôt il contenait des portions pâles ou même d'aspect vacuolaire. Elles devenaient polychromatophiles.

Dionisi (6) a constaté, dans le sang de ses chauves-souris, une altération qui, correspondant « à la dégénérescence anémique d'Ehrlich », était très marquée dans les espèces atteintes du « type estivo-automnal » sans pigment. Quelques érythrocytes contenant *Achromaticus vesperuginis*, sont regardés comme spécimens dégénérés. Il semble cependant que ce soient là des érythrocytes au stade primitif, porteurs de restes nucléaires plutôt que de véritables hématozoaires. L'erreur était particulièrement aisée à commettre, puisque *A. vesperuginis* se réduit parfois à un point de chromatine.

Parmi les érythrocytes qui se montraient plus basophiles ou polychromatophiles, j'en ai étudié un assez grand nombre qui avaient de la chromatine dans leur intérieur. Pour la plupart, c'était seulement un amas sphérique unique, soit au milieu du cytoplasma, soit à la périphérie de 0,3 à 0,5 μ de diamètre, et dont la coloration vive, saillante, sans linéament intermédiaire, évoquait plutôt l'idée d'une spore que d'un noyau véritable (fig. 1).

En second lieu, ce même élément s'entourait d'un très mince liseré rose (fig. 2). Ce liseré pouvait prendre un développement tel qu'il était difficile de ne pas songer à une forme commune d'hématozoaire endoglobulaire. D'autres fois, à la limite des portions pâles ou pseudo-vacuolaires des hématies, on observait des amas de 2, 3 ou plusieurs karyosomes (fig. 3, 4).

Par conséquent nous avions dans nos préparations des séries d'érythrocytes à stades nucléaires, témoignant d'un sang pathologique, tels qu'on en rencontre dans de nombreuses anémies ou cachexies. Au surplus, nous savons qu'ils ne sont pas rares dans les affections de l'homme et des animaux, où le sang est envahi par un protozoaire, piroplasmoses, trypanosomiases. Smith et Kilborne (20) les avaient des premiers signalés dans la Texas fever.

Récemment Nissle (17) a de nouveau appelé l'attention sur ces formes anormales des hématies chez des animaux naganés. Il décrit des globules rouges qui s'incurvent en croissants, ou

qui se distinguent seulement par une teinte plus foncée, ou par de la métachromasie. D'autres renferment dans leur intérieur des restes nucléolaires. On voit aussi parfois des masses de chromatine par 2 ou plusieurs, que Nissle appelle des centrosomes, entourées d'une auréole claire ou disposées dans des figures de division en 8 de chiffre.

Par les travaux de Hayem (10), Ehrlich (9), Jolly (11), Bloch (5), etc., nous connaissons la genèse des érythrocytes nucléées et des globules rouges polychromatophiles.

Leur interprétation n'est pas toujours aisée. A une époque où les méthodes de coloration étaient encore imparfaites, les erreurs devaient être difficilement évitables. G. Schmauch (21) a décrit dans le sang des chats jeunes et adultes des hématies renfermant des corpuscules qui seraient des restes nucléaires. Mais les « corpuscules de Schmauch » traduiraient une altération banale, et ne devraient pas être rattachés à une origine nucléaire, d'après Jolly et Vallée (12).

Les « corps primitifs » de Plehn (19) ne sont plus aujourd'hui regardés par personne comme des formes initiales de paludisme.

A plusieurs reprises, Laveran (14) a mis en garde contre les « pseudo-hématozoaires », qui sont généralement des hématies nucléées, granuleuses ou mal fixées. Chez les Chéloniens et chez les Poissons, les globules rouges sont munis de granulations qui donnent souvent le change. Laveran cite comme exemples de confusions, dans ces dernières années, les pseudo-piroplasmes de Lefas (15) et l'agent de la « Spotted fever » de Wilson et Chowning (26).

Un grand nombre de moustiques, comprenant des *Myzomyia Rossii* et des *Culex pipiens*, furent placés dans la cage de notre chauve-souris. Ceux qui avaient piqué furent mis de côté. On les sacrifia à des périodes comprises entre 1 et 10 jours, on disséqua leur estomac et leurs glandes salivaires. L'examen fut négatif.

Parmi les ectoparasites de notre chauve-souris, il fut possible de relever des *Nycteribia oceanica* Bigot et des *Rhincholophus* sp. ? Nous trouvâmes les Diptères chez la plupart de nos Cheiroptères; les Acariens furent rares ou manquèrent chez un grand

nombre. Chez aucun d'eux il n'y eut de lésions permettant de croire à un commencement d'infection.

La pathologie du sang est vraiment des plus variées chez les Cheiroptères. Les trypanosomes, les spirilles, les hémamibes ou plasmodies y ont été retrouvés tour à tour par maint auteur. C'est au moment où les recherches sur la malaria étaient poursuivies en Italie avec le plus d'ardeur que Dionisi (6) fit paraître son mémoire sur les parasites du sang des chauves-souris. Le fait qui suscita le plus d'intérêt et que Dionisi s'attacha à mettre le plus en lumière, ce fut la parenté des formes nouvelles avec celles de l'homme. Il lui sembla impossible de les distinguer. « La structure du parasite, ajouta-t-il, ne se montre en rien différente de celle du parasite des fièvres estivo-automnales.

Cette « malaria des chauves-souris » était réprésentée par trois espèces :

Polychromophilus murinus, *Polychromophilus melanipherus*, *Achromaticus vesperuginis*, les deux premières pigmentées et « ressemblant aux formes quartes » et l'autre, « proche des formes estivo-automnales, sans pigment ». Les chauves-souris infectées étaient : *Vespertilio murinus*, *Miniopterus schreibersii*, *Vesperugo noctula*.

Cependant, malgré la multiplicité des figures, qui remplissent plusieurs planches, l'ensemble manque de précision. L'auteur ne se prononce pas franchement sur les formes sexuées.

La voie frayée par Dionisi ne manqua pas d'être suivie. Nous possédons aujourd'hui toute une bibliographie sur la pathologie du sang des Cheiroptères.

Nous ne parlerons pas de la spirillose de Nicolle et Comte (16), ni des trypanosomiases diverses : Grassi (6), Dionisi (6), Testi (6), Sambon, Donovan, E. et E. Sergent (28), Kisskalt (13), G. Bowhill (4), Petrie (18), Bettencourt et França (3), Battaglia (1); mais nous passerons rapidement en revue les hématozoaires endoglobulaires des chauves-souris, afin d'essayer une comparaison avec les formes nouvelles rencontrées chez *V. abramus*.

Après Dionisi, nous avons à citer Bowhill (4), Kisskalt (13), Gonder (8), Dutton-Todd-Tobey (7) et Schingareff (22).

Le parasite de Bowhill a été découvert dans une espèce de chauve-souris du Sud-Afrique, *Vespertilio capensis*. Il est endo-

globulaire et pigmenté. Nous avons sans doute affaire à une espèce voisine des *Polychromophilus* de Dionisi, comme le veut l'auteur, mais sans preuves convaincantes, car la description et les photographies sont trop incomplètes.

Richard Gonder (8) a retrouvé chez *Vesperugo kuhli* l'*A. vesperuginis* de Dionisi. Les faits originaux qu'il signale renouvellent nos connaissances sur cet hématozoaire. Il distingue des formes petites, effilées, falciformes, ou allongées en poire, avec un seul noyau; d'autres plus grandes, amiboïdes, avec un noyau périphérique simple ou en voie de division. Les stades adultes les plus différenciés possédant un karyosome à 4 éléments, dont chacun reproduit un nouveau parasite, véritable piroplasme. Avant de subir cette transformation, les karyosomes ont passé par une phase chromidiale, donnant l'impression d'une forme sexuée. Quoi qu'il en soit, malgré la perfection des figures tirées en couleurs, on ne peut affirmer que l'on se trouve bien en présence de gamètes.

Karl Kisskalt (13) a vu dans le sang d'un grand nombre de *Vesperugo pipistrellus* un parasite endoglobulaire. Plusieurs individus du même lot montraient une trypanosomiase spéciale, et l'un d'eux hébergeait les deux parasites. Les formes amiboïdes en anneau dominaient, de 1/6 à 1/3 d'hématie, avec 1 à 8-10 grains de chromatine. Il n'y avait point de pigment. Kisskalt les rapproche des formes d'*Achromaticus vesperuginis*. Il ne mentionne point de gamètes.

Berestneff (2) cité par Schingareff (22) et Galli Valerio (24) ont retrouvé *A. vesperuginis* chez *V. noctula*.

Dutton, Todd et Tobey (7) ont examiné, en Gambie et au Congo, le sang de chauves-souris appartenant à cinq espèces différentes. Chez trois individus seulement, ils ont trouvé un parasite endoglobulaire, qu'ils rapprochent de *Polychromophilus melanipherus*. Ces savants signalent des gamètes, mais leur description, d'ailleurs courte, ne s'accompagne pas de figures.

Au cours de la publication de ces notes, il a paru un mémoire de A. J. Schingareff (22) sur deux hémocytozoaires des chauves-souris, *Vespertilio daubentoni* et *Miniopterus schreibersii*. Chez la première de ces espèces, on trouve les parasites dans le sang et dans les frottis de foie et de rate. Les gamètes sont prédominants et très nets. Des formes sporu-

lées et intraleucocytaires très remarquables ne se trouvent que dans le foie et la rate. L'autre espèce ne possède point de formes sporulées, mais les microgamétocytes comptent « 1, plus rarement 2 et plus de grains de chromatine, rappelant beaucoup des centrosomes ».

A. Schingareff rapproche ses hémocytozoaires des *Polychromatophilus* de Dionisi, tout en insistant sur des points de parenté avec les parasites de la tierce.

En définitive, les hématozaires des chauves-souris décrits jusqu'ici rentrent dans les trois types primordiaux créés par Dionisi, tels que le résume le tableau suivant :

1° *Polychromophilus murinus.*

Vespertilio	*murinus*	Dionisi.
—	*capensis*	Bowhill.
—	*daubentoni*	J.-A. Schingareff.

2° *Polychromophilus melanipherus.*

Miniopterus	*schreibersii*	Dionisi.
—	—	J.-A. Schingareff.
—	—	Dutton, Todd et Tobey.

3° *Achromaticus vesperuginis.*

Vesperugo	*noctula*	Dionisi.
—	—	Berestneff.
—	—	Galli-Valerio.
—	*kühli*	Richard Gonder.
—	*pipistrellus*	Karl Kisskalt.

Chacun de ces types comprend des formes sexuées. *A. vesperuginis*, qui semblait d'abord en manquer, doit à R. Gonder d'avoir comblé cette lacune.

Si l'on considère les caractères tirés du pigment, nous voyons que les hématozoaires des Cheiroptères se partagent naturellement en deux groupes. Le premier, représenté par *A. vesperuginis*, manque de pigment ; le second, pourvu de pigment, comprend les *Polychromophilus*.

C'est dans ce dernier groupe que nous devons placer l'espèce que nous avons décrite chez *Vesperugo abramus*. Par conséquent

nous éliminerons de suite l'*Achromaticus vesperuginis* de Dionisi et de Gonder pour nous arrêter aux formes pigmentées.

Les gamètes, pour Dionisi, sont « des formes de léthargie, parce que, pendant une longue période d'observation, on ne voit pas autre chose ». C'est plutôt à l'aide des figures qu'on peut faire le diagnostic entre les macrogamètes et les microgamétocytes qu'il décrit.

Le grain de chromatine extranucléaire, que nous avons trouvé chez nos gamètes mâles, n'est point mentionné par Dionisi. Mais si l'on regarde de plus près les figures, notamment 32 et 44 de la planche VI, on ne peut manquer de discerner quelque chose de comparable.

Les Hématozoaires de Schingareff se rapprochent des espèces à pigment que Dionisi a nommées *Polychromophilus*. L'un d'eux se fait remarquer par la présence, chez les microgamétocytes, de grains chromatiques extranucléaires, que l'auteur interprète comme des centrosomes. Le plus souvent uniques, ils peuvent aussi être au nombre de deux et davantage. Le parasite de *Vespertilio daubentoni* n'a pas de centrosomes, mais il offre une particularité nouvelle des corps sporulés. J. A. Schingareff a été frappé de la prédominance des gamètes sur les schizontes. C'est à juste titre que ce savant fait rentrer dans le cadre tracé par Dionisi les hémosporidies dont il a transformé la description.

Retrouvant un parasite du sang dans une espèce déjà incriminée par Dionisi (*Miniopterus schreibersii*), il était naturellement porté à confirmer le type plutôt qu'à en créer un nouveau. Mais, d'un autre côté, il est plausible d'admettre que des hématozoaires différents puissent se voir ensemble dans le sang d'une chauve-souris.

Quant à Richard Gonder, les constatations originales qu'il a faites l'ont également rapproché de Dionisi.

Remarquons en passant que les formes sexuées de l'hématozoaire de *V. abramus* rappellent les formes analogues que nous avons décrites chez le *Sciurus griseimanus* d'Annam (25). Mais, si elles se colorent toutes les deux au Romanowsky d'une manière presque identique, celles des Cheiroptères offrent des dimensions supérieures, et leur pigment est plus noir et plus gros. La différence principale consiste jusqu'ici, dans l'absence

de corpuscule de chromatine extranucléaire chez les éléments analogues du parasite de l'écureuil.

Pour définir ce corpuscule chromatique et lui donner son interprétation véritable, il faudrait le suivre à travers les modifications ultérieures des microgamétocytes. Mais nous n'avons pu fixer que des phases très voisines du phénomène.

Nos figures représentaient un grand nombre de formes sexuées mâles, superposables à peu de chose près.

Une hypothèse ne peut, dans ces conditions, être formulée qu'avec beaucoup de réserve.

Le corpuscule de chromatine, dont nous avons fourni les caractères plus haut, est toujours unique dans nos observations. On pourrait alors penser à un centrosome. Et c'est l'opinion de J. A. Schingareff, qui a vu des productions plus ou moins analogues dans le cytoplasme du parasite de *Miniopterus schreibersii*. Toutefois, dans le cas de Schingareff, on rencontre parfois plus de deux corpuscules ou masses de chromatine. De même, dans les figures de Dionisi correspondant au *Polychromatophilus melanipherus*, ces masses sont en nombre variable.

Cette multiplicité ne s'accorde guère avec l'idée de centrosome.

Peut-être s'agit-il d'un stade préparatoire à la maturation et à la formation des microgamètes?

Quoi qu'il en soit, dans le but de mettre plus de précision dans un sujet déjà complexe, nous proposons de désigner sous le nom de *Plasmodium* (ou *Hæmamœba*) *melanipherum*, variété *monosoma*, l'hémocytozoaire de notre chauve-souris. Il répond à la description de *Polychromophilus melanipherus* de Dionisi et surtout de Schingareff, avec cette particularité que les microgamétocytes portent *un seul* corpuscule chromatique extranucléaire, tel que nous l'avons décrit.

Nous exprimons toute notre gratitude à MM. Laveran et Mesnil pour leurs conseils très précieux au cours de ce travail.

Paris, Institut Pasteur, janvier 1907.

BIBLIOGRAPHIE

1. — BATTAGLIA M. Alcune ricerche sopra due tripanosomi. *Trypanosoma vespertilionis, Trypanosoma Lewisi.* — In-8°, 8 p., 4 fig. Rome (*Extr. d. Annali di Med. Navale,* Anno X, vol. 2, fasc. 5).

2. — BERESTNEFF. Cité par A.-J. Schingareff. (Communication orale.)

3. — BETTENCOURT ET C. FRANÇA. (Inst. bact. Camera Pestana, Lisbonne.) Sur un Trypanosome du blaireau (Meles taxus Schreib). Sur un T. de la chauve-souris. *C. R. Société Biologie,* t. LIX, 14 oct. 1905, p. 305-307.

4. — THOMAS BOWHILL (Grahamstown). Note on Hæmatozoa observed in a bat and the occurrence of *Acanthia pipistrelli* Jenyns in South Africa. *Journal of Hyg.*, t. VI, 9 août 1906, p. 246-247.

5. — BLOCH. Beiträge zur Hæmatologie, *Zeitschrift f. klinische Medicin*, t. XLIII, p. 420.

6. — DIONISI A. Les parasites endoglobulaires des chauves-souris, *Archives Italiennes de Biologie,* tome XXXI, fasc. 1, 1899, p. 153-156. *Atti della Reale Accademia dei Lincei.* Anno CCXCV, vol. VII, fasc. IX, 1898. Die Malaria einiger Fledermausarten. *Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen und der Thiere,* t. XVII, Roth. Giessen.

7. — E. DUTTON, JOHN L. TODD, TOBEY. Concerning certain parasitic protozoa observed in Africa. *Memoir XXI of the Liverpool School of tropical medicine,* septembre 1906, p. 87-97, 2 pl.

8. — RICHARD GONDER (Rovigno). *Achromaticus vesperuginis (Dionisi).* *Arbeit. aus d. Kais. Gesundheitsamte,* t. XXIV, f. 2, 1906. Springer, Berlin.

9. — EHRLICH. *Zur Physiologie u. Pathologie der Blutscheiben, Charité-Analen,* t. X, 1885.

10. — HAYEM. *Du sang et de ses altérations anatomiques.*

11. — J. JOLLY. Sur la formation des globules rouges des mammifères. *Congrès international d'anatomie.* Genève, août 1905. *Comptes rendus de la Soc. des Anatomistes,* p. 108. *C. R. Soc. Biologie,* 25 mars 1905, t. LVII, p. 528.

J. JOLLY. Sur la Phagocytose des noyaux expulsés des hématies des Mammifères, *C. R. Soc. Biologie,* t. LXI, 21 juillet 1903, pl. 79-82.

12. — JOLLY ET VALLÉE. Sur les corpuscules de Schmauch et sur la composition histologique du sang de chat, *C. R. Soc. Biologie,* n° 31, 9 nov. 1906, p. 350-352.

13. — KARL KISSKALT (Inst. Hyg. Giessen). Blutparasiten bei Fledermäusen. *Centralblatt für Bakter. I. Orig.*, t. XL, 16 déc. 1905, p. 213-217.

14. — LAVERAN A. Pseudo-hématozoaires endoglobulaires. *C. R. Soc. Biologie,* t. LV, séance du 25 avril 1903, pl. 504-507, fig. *in* texte. — Pseudo-hématozoaires endoglobulaires. *C. R. Acad. Sciences,* t. CXL, 8 mai 1905, p. 1211, fig. *in* texte.

15. — E. LEFAS. Sur la présence de corpuscules spéciaux dans un cas d'anémie grave. *Arch. méd. expér.*, t. XVII, janvier 1905, p. 87-90, fig. *in* texte. — L'anémie corpusculaire, *Arch. gén. médec.*, 21 mars 1905, p. 705-710, 1 pl.

16. — C. NICOLLE ET C. COMTE. Sur une nouvelle spirillose. *C. R. Soc. Biologie*, t. LIX, 22 juillet 1905, p. 200-202. — Contribution à l'étude des trypanosomes des Cheiroptères, *C. R. Soc. Biologie*. t. LX, 20 avril 1906, p. 736-738. — Sur une spirillose d'un Cheiroptère (*Vespertilio Kuhli*). *Ann. Inst. Pasteur*, t. XX, 25 avril 1906, p. 311-320, 1 pl.

NICOLLE C. ET COMTE C. Faible réceptivité d'une chauve-souris par un Trypanosome pathogène. *C. R. Soc. Biologie*, Paris, t. LVIII, nº 6, p. 245-246.

17. — A. NISSLE. Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Thiere. *Arch. für Hyg.*, t. LIII, 1905, p. 181-204, 1 pl.

18. — PETRIE G. F. (Serum departm., Lister Institute). Observations relating to the structure and geographical distribution of certain trypanosomes. *Journ. of Hyg.*, t. V, avril 1905, p. 191-200.

19. — *In* Manson. *Tropical diseases*, p. 6, 3e éd.

20. — TH. SMITH and F. S. KILBORNE. Investigations into the nature causation and prevention of Texas or Southern cattle fever. *U. S. dep. of. Agricult.* Bull. nº 1. On changes in the red blood corpuscules in the pernicions anœmia of Texas cattle Fever.

21. — G. SCHMAUCH. Ueber endoglobuläre Körperchen in den Erythrocyten der Katze. *Virchows Archiv*. 1899. Bd 156, p. 201-244, 1 pl.

22. — A.-J. SCHINGAREFF. Des Hémosporidies des chauves-souris, *Archives des Sciences biologiques*, publ. par l'Institut Impérial de médecine expérimentale à Saint-Pétersbourg, tome XII, nº 3, Saint-Pétersbourg, 1906. Edit. franç.

23. — SERGENT ED. ET ET. Sur des trypanosomes des chauves-souris, *C. R. Soc. Biol.* Paris, t. LVIII, nº 2, p. 53-55.

24. — GALLI VALERIO. Notes de parasitologie et de technique parasitologiques, *Centralblatt f. Bakt., I, Originale*, t. XXXIX, p. 230, 1905.

25. — J.-J. VASSAL. Sur un hématozoaire endoglobulaire pigmenté d'un écureuil de l'Annam. *C. R. Soc. Biologie*, nº 8, 3 mars 1905, p. 350-351. — Sur un hématozoaire endoglobulaire nouveau d'un Mammifère. *Annales de l'Institut Pasteur*, tome XIX, avril 1905, p. 224-232, 1 pl. en coul.

26. — L. B. WILSON et W. M. CHOWNING. *Spotted fever* des Montagnes Rocheuses, *Rept. of the Montana State*, p. 25-91, 3 pl., nov. 1902.

LÉGENDE DE LA PLANCHE V

Fig. 1. — Érythrocytes polychromatophiles, ou non, avec point chromatique unique, avec ou sans liséré.

Fig. 2. — Érythrocytes polychromatophiles avec point chromatique unique entouré d'une zone.

Fig. 3. — Érythrocytes avec pseudo-hématozoaires.

Fig. 4. — Érythrocytes à portions pâles ou pseudo-vacuolaires renfermant des amas de karyosomes.

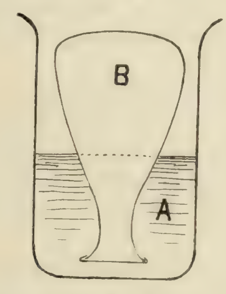
Fig. 5. — Gamètes femelles.

Fig. 6. — Gamètes mâles.

PROCÉDÉ SIMPLE ET RAPIDE
DE
Préparation des milieux gélosés et gélatinés.

Par M. BISSÉRIÉ
PHARMACIEN-MAJOR DE 1re CLASSE

Tous ceux qui ont eu à employer des milieux gélosés connaissent les difficultés de préparation de ces milieux, difficultés provenant surtout du long temps que demande leur filtration, laquelle nécessite d'ailleurs des appareils spéciaux.



Le procédé suivant permet de préparer rapidement ces milieux parfaitement limpides à l'aide du seul autoclave :

Le milieu gélosé (ou gélatiné, ou tout autre) est préparé au bain-marie dans un vase cylindrique en verre de Bohême A; dès que la gélose est ramollie, on introduit dans ce premier récipient un vase conique (ou ballon) B, le goulot en bas, touchant le fond du premier récipient. Ce vase conique a préalablement été préparé de la façon suivante :

Une toile fine (batiste) est bien tendue et solidement ficelée sur le goulot; par-dessus cette membrane on applique un morceau de papier à filtrer Chardin et par-dessus ce dernier une nouvelle membrane de toile, ces deux dernières étant ficelées ensemble sur la première. Le tout est introduit dans l'autoclave que l'on chauffe, d'abord à 100° robinet ouvert, puis, *quand tout l'air est chassé*, à 120° robinet fermé; l'air du vase conique est complètement chassé et remplacé par de la vapeur d'eau. Après quelques minutes à 120°, on laisse refroidir l'autoclave, et lorsque l'aiguille du manomètre est revenue à zéro, on ouvre *très*

lentement le robinet pour laisser pénétrer l'air *peu à peu*; par suite du refroidissement, la pression atmosphérique fait pénétrer la totalité du liquide chaud dans le vase conique B, à travers la triple membrane filtrante ; ce récipient contient alors un liquide très limpide qui, ayant été filtré après stérilisation à 120°, ne risque plus de se troubler lorsqu'on le portera de nouveau à cette température après l'avoir distribué dans d'autres récipients, s'il y a lieu.

Une demi-heure suffit pour la préparation, filtration et stérilisation du milieu, et l'on n'a aucune perte de ce dernier.

Recommandations pratiques.

1° Ne fermer le robinet que lorsque l'air est complètement chassé de l'autoclave ;

2° N'ouvrir le robinet que peu à peu, très lentement, pour que la rentrée de l'air ne soit pas trop brusque, ce qui ferait marcher la filtration trop vite et risquerait de crever le filtre;

3° Dès que tout le liquide est passé dans le vase conique B, retourner celui-ci, le col en haut;

4° Afin d'éviter que la vapeur et l'eau de l'autoclave ne pénètrent dans le liquide à stériliser, on peut fermer le vase A par un couvercle quelconque (cristallisoir ou capsule) simplement posé sur ce récipient.

Sur le traitement de la rage par le radium

PAR MM. G. TIZZONI ET BONGIOVANNI

RÉPONSE A M. LE Dr A. CALABRESE

Après notre réponse au mémoire du Dr Danysz (*Annales de l'Institut Pasteur*. N° 8, 1906) nous ne devrions faire aucune remarque au sujet du récent travail du Dr Calabrese; nous ne pouvons cependant nous empêcher de relever les multiples erreurs de concept et de méthode qu'il renferme.

En effet, le Dr Calabrese, en affirmant « que les radiations sont les émissions du radium qui passent facilement à travers le mica et le verre », montre ne pas savoir que quelques-unes d'entre elles, les rayons X par exemple, sont complètement arrêtées par les milieux susmentionnés; en insistant sur les expériences pratiquées au moyen de radium renfermé dans un tube de verre maintenu devant l'œil à une distance d'un 1/2 centimètre, il fait l'effet de n'avoir absolument pas compris que dans ce cas-là, les radiations qui se perdent sont plus nombreuses que celles qui sont utilisées; en invoquant les émanations comme cause déterminante de la lésion locale, il montre qu'il ignore que celle-ci est donnée exclusivement par les radiations; enfin, en attribuant au radium des altérations aussi graves et aussi étendues que le décollement de la peau intéressant la moitié de la face, par exemple (*Riforma Medica*, N° 2. 1906), il prouve qu'il ne sait pas que le radium détermine des lésions limitées exclusivement au point de son application (chute des cils et des poils voisins, blépharite ulcéreuse, etc...) et que par conséquent les autres lésions doivent reconnaître une cause différente. Au reste, ce n'est pas de la bonne logique que celle qui consiste à combattre les faits en relevant l'apparente contradiction à laquelle donne lieu leur interprétation. Les faits sont et resteront tels que nous les avons annoncés; plus de 80 animaux qui ont survécu à nos expériences (et parmi ceux-ci un grand nombre purent être maintenus en vie pendant plus d'un an) sont là pour le démontrer; ce qui nous le prouve

encore, ce sont les nombreuses expériences de contrôle que nous avons répétées devant les étudiants et en présence de collègues des plus compétents.

Pour ce qui regarde leur interprétation, il est naturel que celle-ci puisse varier suivant le progrès de nos connaissances.

Les expériences entreprises au moyen d'échantillons renfermés dans les boîtes anglaises ordinaires nous avaient conduits tout d'abord à nier toute participation des émanations dans la décomposition *in vitro* du virus rabique; cela, parce que, à ce moment, personne ne soupçonnait que, même à travers la fermeture de l'appareil, les émanations pussent facilement se répandre; des expériences successives nous ont obligés à modifier notre opinion à ce sujet, en nous prouvant que l'élimination complète de telles émanations, obtenue par les moyens rigoureux mis en usage par nous, annule l'action décomposante du radium sur le virus rabique qui en vient ainsi à conserver intégralement son pouvoir pathogène.

Ce n'est pas tout encore; si les recherches précédentes nous démontraient la nécessité de la présence des émanations pour annuler *in vitro* l'action du virus rabique, d'autres recherches, que nous publierons sous peu, nous disent que ces émanations, bien que nécessaires, ne suffisent pas, elles seules, sans le concours des radiations, à déterminer les effets signalés.

M. Calabrese voit donc que, même sur ce point, il ne peut se flatter de trouver dans nos travaux confirmation de ses recherches *postérieures*, et bien moins encore de ses résultats *négatifs*.

Pour ce qui est de la lésion des paupières, nous maintenons intégralement ce que nous avons annoncé : à savoir qu'un échantillon de 2 centigrammes de bromure de radium à 100,000 U. R. par centigramme ne donne lieu à aucune lésion de la partie, même si l'application se prolonge pendant plusieurs heures; la lésion s'observe, au contraire, quand on fait usage d'échantillons plus forts (1 décigramme à 500.000 U. R. par centigramme) du genre de celui que nous avons acquis plus tard; nous ne voyons pas non plus quels rapports cela peut avoir avec la possibilité de la guérison de la rage, pour l'obtention de laquelle on pourrait laisser de côté la chute des cils, la blépharite ulcéreuse et même davantage, à condition de sauver la vie.

Pour ce qui est de l'application à l'homme, c'est l'expérience seule et non M. Calabrese qui pourra nous dire si elle est possible; de toute façon, qu'elle réussisse ou non, elle ne pourra modifier en rien le principe scientifique que le radium, *dans des conditions déterminées*, est capable de détruire *in vitro* le virus rabique et de guérir la rage chez l'animal.

ERRATA

M. Nicolle et Adil-Bey. *Action de la bile*, etc.
(*Ces Annales*, janvier 1907.)

Page 21, ligne 32. Au lieu de : 1/200, lire : 1/2000.
Page 25, ligne 15. Au lieu de : b. typhique, lire : le b. typhique.
M. Nicolle. Sero-immunité, etc. (même fascicule).
Page 26, ligne 19. Au lieu de 63 cgr., lire : 64 cgr.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE AVRIL 1907 N° 4

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

La Sérothérapie dans le traitement de la dysenterie bacillaire

PAR MM.

VAILLARD ET CH. DOPTER

Médeciu inspecteur de l'armée.

Médecin major de 2e classe.
Professeur agrégé du Val-de-Grâce.

Nous avons déjà fait connaître dans ces *Annales*[1] les propriétés acquises par le sérum des chevaux immunisés contre le bacille dysentérique, son pouvoir antimicrobien et antitoxique, son action préventive et curative dans la dysenterie expérimentale des animaux, enfin ses applications pratiques à la médecine humaine basées sur le traitement de 96 malades ; il a paru ressortir de l'ensemble des faits expérimentaux et cliniques que ce sérum constituait réellement l'agent spécifique pour le traitement de la dysenterie bacillaire. Les résultats obtenus depuis lors par l'emploi de la sérothérapie dans la dysenterie de l'homme confirment ces premières données ; la présente note a pour but de l'établir.

Au cours de l'été 1906, il a été traité 243 cas de dysenterie se répartissant en deux groupes qui seront envisagés séparément.

a) 200 dysentériques, dont 10 enfants, observés dans les hôpitaux de Paris (49), Lyon (73), Bordeaux (17), Toulon (20), Toul (7), ou parmi des malades non hospitalisés : de ces derniers 19 appartiennent à une épidémie de Bretagne ;

b) 43 dysentériques des asiles d'aliénés de Maréville (Meurthe-et-Moselle) et de Quatre-Mares (Seine-Inférieure).

Tous ces malades n'ont pas été traités par nos soins ; nous exprimons notre gratitude aux médecins qui, après avoir utilisé

1. VAILLARD ET DOPTER, Le sérum antidysentérique, *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1906.

le sérum, ont bien voulu nous communiquer les résultats obtenus avec leur appréciation personnelle.

I

Les 200 dysenteries du premier groupe étaient d'inégale gravité. En se basant sur l'acuité des troubles intestinaux (coliques, fréquence quotidienne des selles, caractères des déjections), et sur les symptômes d'intoxication (vomissements, adynamie, faiblesse du pouls, hypothermie, état syncopal, etc.) on peut les diviser de la manière suivante :

Cas d'intensité moyenne	101
Cas graves	55
Cas extrêmement graves	19
Cas considérés comme mortels	25
	200

Ce chiffre de malades dans lequel la proportion des cas graves ou mortels (99) entre pour moitié, a donné 10 décès, en y comprenant ceux qui sont survenus chez des sujets déjà en imminence de mort au moment où le sérum a été injecté ; soit une mortalité brute de 5 0/0. Mais la plupart de ces décès, sinon tous, ne sauraient être valablement retenus au passif de la sérothérapie, comme il ressortira des commentaires suivants sur les circonstances où ils se sont produits :

1° Deux décès concernent des marins de Toulon, très gravement atteints depuis plusieurs jours et conduits à l'hôpital Saint-Mandrier en état de collapsus ; leur situation était désespérée au moment où le sérum a été injecté. (Note du Dr Planté) ;

2° Deux décès ont trait à des malades de Bretagne qui étaient déjà mourants ou presque mourants lorsque le sérum a été employé : l'un a succombé le jour même de l'injection, l'autre le lendemain. (Note du Dr Marchais, de Carhaix) ;

3° Adulte malade depuis 8 jours. La fréquence des selles est modérée (17 à 20 par 24 heures), mais des symptômes significatifs traduisent une profonde intoxication : prostration, adynamie, algidité, aphonie, pouls misérable, facies cholérique. Deux injections de 100 c. c sont pratiquées, mais le sujet s'éteint dans une syncope 36 *heures* après le début du traitement. — Les lésions intestinales étaient limitées, réduites à trois pla-

ques ulcérées. Il s'agissait d'une dysenterie hypertoxique qui eût peut-être guérie si le sérum avait été appliqué dès le début de la maladie et non aux approches de la mort ;

4° Sujet adulte, malade depuis *trois semaines*, et traité successivement par les purgatifs, le bleu de méthylène, l'ipéca. Au moment où l'on a recours au sérum, la situation du patient est désespérée ; expulsion de lambeaux de muqueuse sphacélée, collapsus. Une dose de 20 c. c. de sérum est injectée quotidiennement. La mort survient au troisième jour de ce traitement.

A l'autopsie : péritonite généralisée, agglutinant les anses intestinales. Le gros intestin est ulcéré dans toute son étendue, de l'anus au cœcum et souvent jusqu'à la musculeuse ; les lésions ulcératives intéressaient l'appendice et la portion terminable du grêle. (Médecin principal Berthier) ;

5° Sujet adulte, au dixième jour d'une dysenterie considérée comme mortelle, reçoit la dose absolument insuffisante de 70 c. c. de sérum réparties en 4 jours. Mort 7 jours après le début d'un traitement qui a été tardif et trop parcimonieux. (Toul) ;

6° Sujet adulte atteint depuis 5 jours d'une dysenterie exceptionnellement grave. Au moment où le sérum intervient, les selles sont incessantes, incomptables ; le malade reste, pour ainsi dire, collé sur le vase. Pouls misérable avec adynamie inquiétante. Un lambeau de muqueuse sphacélée long de 15 à 20 centimètres a été expulsé.

Après 13 jours d'un traitement intensif pendant lequel 810 c. c. de sérum furent injectés, cette maladie d'un pronostic fatal était *complètement guérie* et l'évacuation quotidienne réduite à une selle moulée. Mais au *dixième jour de la guérison confirmée* surviennent brusquement des épistaxis incoercibles, puis des hématémèses entraînant une cachexie rapide, des convulsions et la mort en trois jours.

Ainsi ce sujet, notoirement guéri de sa dysenterie depuis 10 jours, meurt de septicémie hémorragique à marche presque foudroyante, dont une vie quelque peu déréglée avait sans doute facilité l'incidence ;

7° Enfant de 5 ans, émigrant russe, maigre et d'aspect misérable qui dès son entrée à l'hôpital (service de M. Guinon) « apparaît profondément intoxiqué ; teint terreux, abattement, somnolence ; 65 selles muco-sanglantes dans les 24 heures.

T. : 39°; pouls petit et mou; algidité très marquée ». Le traitement par le sérum est commencé 6 jours après le début de cette dysenterie grave et à la dose quotidienne de 40 c. c. Les troubles intestinaux s'amendent aussitôt. Mais dès le lendemain de la première injection se déclare une broncho-pneumonie double qui emporte le petit malade en 4 jours.

L'autopsie montre, indépendamment des lésions classiques de la dysenterie, une brocho-pneumonie pseudo-lobaire, bi-latérale, avec hépatisation grise due au pneumocoque. « Il faut reconnaître, disent MM. Ribadeau-Dumas et Burnier, que la mort était plus imputable à la broncho-pneumonie qu'à la dysenterie que la clinique et l'étude anatomique nous a montrée en voie de guérison. » (*Société de pédiâtrie*, 16 oct. 1906).

Un frère de ce petit malade, âgé de 3 ans, avait été également conduit à l'hôpital pour une dysenterie de même gravité; il est traité par le sérum et guérit en 7 jours :

8° Adulte atteint depuis 24 heures d'une dysenterie très grave avec adynamie, vomissements incoercibles et albumine dans les urines. Des injections quotidiennes de 50 c. c. de sérum produisent rapidement une sédation de tous les symptômes et une diminution considérable du nombre des selles. Mais dès le 5e jour surviennent des accidents sériques (érythème généralisé) dont l'intensité oblige à suspendre le traitement. Les troubles intestinaux reprennent aussitôt. De nouvelles injections de sérum sont pratiquées à doses modérées (20 c. c.). La dysenterie s'apaise, mais les accidents sériques, accompagnés de fièvre, se reproduisent avec une intensité plus grande. L'emploi du sérum est encore suspendu et cette interruption est immédiatement suivie d'une reprise de la dysenterie avec aggravation de l'état général. Devant les menaces qui en résultent pour la vie, on essaye une troisième fois des doses faibles de sérum, mais l'intolérance se manifeste avec une acuité progressivement croissante, et force est bien d'abandonner définitivement le sérum.

Dès lors, la dysenterie traitée par les moyens usuels évolue sans amendement : les selles redeviennent fréquentes, l'amaigrissement est rapide, le muguet s'installe et le malade s'éteint lentement, dans le délire, six semaines après le début de l'affection.

C'est la première fois qu'il nous est donné de constater une pareille intolérance à l'égard du sérum, même dans les circonstances où des quantités bien plus considérables avaient été injectées.

En vérité, on ne saurait imputer tous ces décès à un insuccès de la méthode. Cinq d'entre eux se produisent chez des sujets presque mourants au moment où le traitement commence ; un sixième est dû à une péritonite déjà en évolution sans doute lorsque le sérum intervient : l'action du sérum a des limites et ne peut être tenue à l'impossible. Ici la pneumonie grise tue un jeune enfant dont la dysenterie est en bonne voie de guérison; là une septicémie hémorragique emporte un adulte déjà guéri depuis 10 jours : le sérum ne constitue pas le remède à tous les maux. Ailleurs enfin, le sérum n'est pas toléré ou n'est employé que tardivement et à des doses absolument insuffisantes. Cependant, et malgré la logique, nous avons tenu à comprendre toutes ces morts dans notre statistique afin de lui conserver sa sincérité ou, pour mieux dire, afin de l'établir sur un abus de sincérité.

Mais si, tout au moins, on fait abstraction des six cas où le sérum ne pouvait agir parce qu'il s'adressait à des malades dont la situation était désespérée et la mort prochaine, on arrive alors à une mortalité de 2 0/0; et cette proportion reste encore *au-dessus* de la vérité, ainsi qu'il découle des explications qui précèdent.

Cette mortalité de 2 0/0 (en admettant qu'elle soit bien exacte) n'apparaît pas moins très éloquente lorsqu'on la rapproche des cas graves (74) et surtout des cas *mortels* (25) traités par le sérum. Le bénéfice obtenu se suppute aussi par la comparaison avec la léthalité moyenne de la dysenterie en divers pays :

24 0/0 au Japon (Shiga);

12 à 17 0/0 à Moscou (Rosenthal) ;

11 0/0 en Westphalie rhénane (Kruse) ;

6, 9 0/0 à Toulon sur les 129 malades de l'épidémie de 1906, encore que, vers la fin de l'épidémie, 20 dysentériques parmi les plus graves aient été soumis à la sérothérapie ;

20 à 50 0/0 en Bretagne, au cours de l'été 1899 (Netter);

50 à 60 0/0 dans les épidémies annuelles des environs de Carhaix (Finistère). (Dr Marchais.)

Cette comparaison dispense de tout commentaire. Cependant, à ce sujet, il ne sera pas inutile de citer un épisode de l'épidémie bretonne de 1906.

Le Dr Marchais (de Carhaix) est appelé le 1er décembre dans une famille de 7 personnes qui toutes ont été ou sont atteintes de dysenterie. Une enfant de 8 ans est morte le 24 novembre; le père, âgé de 49 ans, a succombé le 29 novembre. La mère et une fille de 13 ans sont en voie de guérison. De ces 4 sujets qui ont fourni 2 décès, aucun n'a reçu de sérum.

Au moment de la visite du médecin, les trois autres membres de la famille sont très dangereusement infectés.

Un garçon de 11 ans ans est malade depuis 8 jours ; son jeune frère âgé de 5 ans est atteint depuis 4 jours. Tous deux présentent de 120 à 150 évacuations sanglantes par 24 heures. Le sérum leur est injecté et la guérison se fait rapidement, en quelques jours.

Le frère aîné, âgé de 22 ans, présente depuis 48 heures une dysenterie plus grave encore et qui paraît devoir être fatalement mortelle. Les déjections sont incessantes, presque entièrement hémorragiques. Le facies est grippé, le pouls petit et filant, l'adynamie très marquée; l'algidité commence. « J'ai vu peut-être 300 cas de dysenterie depuis 8 ans, écrit le Dr Marchais, et ceux qui ont suivi cette marche se sont presque tous terminés par la mort. » Le sérum est injecté à haute dose (180 c. c. en 3 jours), et la guérison inespérée s'établit très rapidement.

Cette observation d'un praticien familiarisé avec la gravité de la dysenterie bretonne méritait bien d'être rapportée.

Le critérium de la valeur du sérum ne réside pas seulement dans l'abaissement de la mortalité ; on le trouve aussi dans le soulagement immédiat qu'il procure aux malades et la rapidité de leur guérison. Les faits antérieurement énoncés à ce sujet se sont vérifiés de tous points chez les dysentériques traités depuis lors. Le sérum apaise en quelques heures les douleurs abdominales, le ténesme et les épreintes ; il fait fléchir la fréquence des selles avec une brusquerie que les graphiques insérés dans notre précédent mémoire ont reproduit d'une manière saisissante[1]. En même temps la nature des déjections

1. Voir ces *Annales*, mai 1906.

change : le sang disparaît d'abord, puis le mucus et les matières reviennent à l'état fécaloïde, indice de la guérison prochaine. Les dysenteries d'intensité moyenne sont jugulées en 24 ou 48 heures. Dans les dysenteries graves, tel malade qui présentait 100, 150 et même 200 selles au moment où le traitement est institué n'en subit plus que 20,10 ou quelques unités après 2 ou 3 injections de sérum. L'état général se transforme parallèlement et la guérison complète survient en 4 ou 6 jours pour les cas graves, en 10 ou 15 jours dans ces formes où l'intensité des symptômes abdominaux et les signes d'intoxication imposaient le présage d'une issue fatale. Nous pourrions citer maint cas où, après échec des moyens employés et contre toute espérance de l'entourage, le sérum rationnellement employé a mis fin au progrès menaçant d'un mal redoutable. Le sérum apparaît alors comme un remède vraiment héroïque, parce qu'il est le remède spécifique.

Encore doit-il arriver à temps, avant la détresse irrémédiable de l'organisme, à cette période où la défense cellulaire peut bénéficier du secours qui lui arrive. La dysenterie guérit d'autant mieux et plus vite que le sérum intervient plus près de son début; dans ces conditions elle est facile à enrayer, et comme on ne peut jamais prévoir la gravité ultérieure d'une dysenterie qui commence, il sera toujours prudent d'injecter le sérum de bonne heure.

Encore faut-il aussi que le sérum soit donné en quantité convenable, proportionnée à l'intensité de l'infection. Si les doses faibles (20 c. c.) suffisent habituellement aux cas moyens, elles restent au-dessous des nécessités dans les formes graves, surtout quand leur début date déjà de plusieurs jours. Ces formes dangereuses réclament impérieusement, et d'emblée, des doses fortes, (50,80,100 c.c.) et un traitement intensif : la guérison est à ce prix. Agir autrement, c'est favoriser des insuccès qu'il serait possible d'éviter.

II

43 dysentériques ont été traités dans les asiles de Maréville, (Dr Aubry) et de Quatre-Mares (Dr Lallemand).

La dysenterie est fréquente et grave chez les aliénés; elle fait chaque année son apparition dans beaucoup d'établisse-

ments, déterminant parfois de grosses épidémies. La mortalité est surtout grande lorsque la maladie frappe les quartiers d'agités ou d'infirmes (paralytiques déments); elle peut s'élever alors à 15 ou 25 0/0, tandis que les sections d'aliénés valides et jeunes sont plus épargnées.

Certains ont pensé que la dysenterie des aliénés était d'une nature spéciale. Kruse a décrit en 1901 un bacille particulier, le « pseudo-dysentérique ». Depuis lors on a rencontré des bacilles dysentériques différents dans les épidémies d'asile : tantôt le type Shiga qui est celui de la maladie habituelle à nos pays, tantôt le type Flexner, tantôt enfin des variétés se rapprochant plus ou moins de l'un ou de l'autre (*para-dysentérique*). Pour Lieffmann et Nieter[1], tous les bacilles isolés dans la dysenterie des aliénés ne seraient que des *para-dysentériques*. Cette question étiologique est encore incertaine. Quoi qu'il en soit, le bacille du type Shiga nous a paru en cause dans l'épidémie de Quatre-Mares et le bacille du type Flexner à Maréville.

16 dysenteries, dont 7 extrêmement graves, sont traitées à l'asile de Maréville. Deux décès se produisent, l'un au 25e jour, l'autre après six mois par cachexie; pour ces deux cas dont le début remontait déjà à 10 ou 12 jours, le traitement, faute de sérum, a été trop modéré et même suspendu après quelques injections. Les années précédentes, 36 cas avaient fourni 8 décès, soit 22 0/0. Le docteur Aubry, médecin de l'asile, constate l'amendement immédiat de tous les symptômes sous l'influence du sérum et la rapidité de la guérison lorsque la maladie est prise à son début.

A l'asile de Quatre-Mares, 27 dysentériques, dont 10 atteints de formes très graves, sont soumis au sérum : 5 succombent; il s'agissait de paralytiques gâteux et d'un idiot cachectique, tous en état de misère physiologique profonde. De ces décès, l'un est survenu dans la nuit même qui a suivi l'injection et ne saurait être valablement retenu; les quatre autres portent sur des gâteux qui avaient reçu des doses de sérum trop insuffisantes par rapport à la violence de l'infection intestinale. Chez les autres malades, la guérison a toujours été prompte.

De ces faits il semblerait ressortir que : 1° la dysenterie

1. *Munch. Med. Woch.* Octobre 1906.

des aliénés infirmes, gâteux ou cachectiques affecte une gravité dont le sérum ne triomphe pas aisément, avec cette réserve cependant que le traitement n'a pu être toujours conduit comme il convenait: 2° chez les aliénés valides et résistants, surtout quand la dysenterie est prise au début, les doses très modérées de sérum déterminent une guérison rapide.

III

Ce n'est point par un simple artifice d'exposé que, dans ce compte rendu, nous avons envisagé séparément la dysenterie des aliénés et celle des sujets antérieurement sains. A la vérité, ces faits ne sont pas exactement comparables tant au point de vue de la résistance organique des malades traités que des modes d'emploi du sérum.

Retenant surtout les résultats obtenus chez les 200 dysentériques du premier groupe pour les rapprocher de ceux déjà produits en 1906, nous croyons en pouvoir déduire que cette nouvelle expérience d'une année confirme pleinement nos conclusions antérieures.

« Injecté à doses qui doivent varier avec la gravité des cas. le sérum enraye à la fois l'infection et l'intoxication, produit la sédation presque immédiate de tous les troubles intestinaux et assure une guérison rapide,

« Ses effets sont d'autant plus prompts et décisifs qu'il intervient plus près du début de la dysenterie; celle-ci peut être alors radicalement jugulée dans son évolution.

« Le sérum est encore très efficace dans les dysenteries traitées tardivement; il soulage toujours le malade, arrête les progrès de l'infection et, s'il en est temps encore, hâte la guérison. »

Utiliser le sérum aussitôt que possible après le début de l'affection, en proportionner les doses à l'intensité du mal, telles sont les indications essentielles du traitement. Dans les dysenteries moyennes, 20 ou 30 c. c. peuvent suffire. Mais dans les dysenteries graves, il faut injecter d'emblée 40, 60, 80 c. c. même plus et réitérer cette dose le lendemain; si les troubles intestinaux ne sont pas alors suffisamment apaisés, l'emploi du sérum doit être encore continué à doses décroissantes jusqu'à ce que le nombre des selles se réduise à quelques unités.

Le sérum antidysentérique compte parmi les plus fidèles au point de vue curatif; il est de ceux dont les effets immédiats se traduisent d'une manière évidente et le malade est le premier à en accuser les bienfaits. Ce sérum représente réellement le moyen spécifique du traitement de la *dysenterie bacillaire;* par son action et son efficacité il devient à cette dernière ce que le sérum antidiphtérique est à la diphtérie. Sa vulgarisation permettra de réduire au minimum la mortalité dysentérique. Grâce à son emploi, le médecin peut avoir la certitude de soulager rapidement les souffrances du malade, d'abréger leur durée en agissant sur la cause qui les provoque et, par cela même, d'assurer à l'intéressé toutes les chances possibles d'une prompte guérison. Et la prophylaxie y trouvera aussi son compte, car en réduisant l'évolution de la maladie on diminue d'autant la période pendant laquelle est émis le contage qui la propage. Enfin le sérum qui guérit la dysenterie est également capable d'empêcher son développement : employé à titre préventif chez les personnes exposées à la contagion, il peut les mettre à l'abri de l'infection. La fréquence des épidémies de famille dans les milieux ruraux, surtout en Bretagne, la gravité de la maladie chez les enfants et les sujets débiles, justifieront une mesure qui a si bien fait ses preuves pour la diphtérie, c'est-à-dire l'injection préventive. En utilisant le sérum à bon escient, les médecins de nos populations bretonnes, si durement éprouvées chaque année par la dysenterie, ne manqueront pas de sauvegarder bien des existences.

Études sur les Hématozoaires d'Oiseaux

Plasmodium relictum, Leucocytozoon ziemanni et Hæmoproteus noctuæ, Haemoproteus columbæ, Trypanosome de l'Hirondelle.

ALGÉRIE 1906

(Avec les Pl. VI et VII.)

Par les Drs Edmond SERGENT et Étienne SERGENT

Sommaire :

A. *Plasmodium relictum* (= *Proteosoma*) : 1. Infection successive de plusieurs Oiseaux par les mêmes Moustiques non réinfectés.

2. Non-infection par des Moustiques issus de Moustiques infectés.

3. Expériences sur l'immunité de l'Oiseau et sur l'immunité du Moustique.

4. Infection possible du *Stegomyia fasciata.*

B. *Hémosporidies des Rapaces nocturnes.*

Leucocytozoon ziemanni, Haemoproteus noctuae. Recherches de vérification des faits énoncés par F. Schaudinn.

C. *Haemoproteus columbae.* Découverte du second hôte (*Lynchia maura*). Action de la quinine. Quelques faits sur les *Haemoproteus* d'autres Passereaux (Moineau, Verdier).

D. *Trypanosome de l'Hirondelle.*

***

L'étude des Hémosporidies des Oiseaux. intéressante au point de vue de la biologie générale. l'est aussi pour la pathologie humaine, en raison de la parenté de ces Hémosporidies avec le parasite du paludisme.

La possibilité de l'expérimentation avec les Oiseaux permet d'aborder, par des recherches sur leurs Hémosporidies, des problèmes malaisés à résoudre avec le *Plasmodium* du paludisme, qui ne peut pas infecter d'autre Vertébré que l'Homme. C'est ainsi que des connaissances très importantes ont été d'abord acquises par des expériences sur les Oiseaux, avant d'être vérifiées par des expériences sur l'Homme : découvertes du processus sexué par Mac Callum, du cycle évolutif des *Plasmodium* chez les Moustiques par R. Ross.

Mais les recherches sur les Hématozoaires ne peuvent être effectuées que dans les pays où la température permet de suivre leur évolution dans les conditions naturelles. Nos tenta-

tives d'infection de *Culex* par le *Plasmodium relictum* des Oiseaux étaient restées infructueuses dans la région de Paris en 1903. C'est pourquoi nous avons établi en Algérie, depuis 1903, le siège de nos recherches.

Nous donnons dans ce mémoire nos résultats de 1906.

A. PLASMODIUM RELICTUM GRASSI ET FELETTI 1891
(= *Proteosoma* = *Haemamœba relicta*.)

I

INFECTION SUCCESSIVE DE PLUSIEURS OISEAUX PAR LES MÊMES MOUSTIQUES NON RÉINFECTÉS.

Nous avons pu nous convaincre expérimentalement que des Moustiques infectés sur un Oiseau à *P. relictum* peuvent infecter non seulement un *premier* Canari neuf, mais un *second* Canari neuf. Nous n'avons pas constaté l'infection d'un troisième Oiseau par les mêmes *Culex*. Ces faits sont importants à connaître pour l'épidémiologie du paludisme humain.

I. — 36 *Culex* infectés le 9 mai sur un Moineau à *P. relictum* infectent par piqûre un premier Canari le 30 mai, un second le 7 juin.

II. — 12 *Culex* infectés le 7 juin sur un Moineau, infectent un premier Canari le 15 juin, un deuxième le 23 juin.

III. — 40 *Culex* infectés le 19 juin sur un Moineau, infectent un premier Canari le 30 juin, un deuxième le 12 juillet.

IV. — 2 *Culex* infectés, le 14 juillet sur un Moineau infectent un premier Canari le 25 juillet, un deuxième le 15 août.

V. — 3 *Culex* infectés le 15 août sur un Moineau infectent un premier Canari le 29 août, un deuxième le 24 septembre.

Culex n'infectant pas un troisième Canari.

I. — 15 *Culex* provenant des expériences II et III précédentes, c'est-à-dire ayant piqué un Moineau et infecté successivement 2 Canaris neufs, piquent mais n'infectent pas un 3e Canari neuf le 25 juillet.

II

NON-INFECTION PAR DES MOUSTIQUES ISSUS DE MOUSTIQUES INFECTÉS.

I. — Une dizaine de *Culex* nés d'œufs pondus par des *Culex* infectés piquent le 26 juin un Canari neuf. Aucun résultat.

II. — 40 *Culex* nés d'œufs pondus par des *Culex* infectés piquent le 28 juillet un Canari neuf. Aucun résultat.

L'infection ne paraît donc pas être héréditaire chez les Moustiques.

III

EXPÉRIENCES SUR L'IMMUNITÉ CONTRE LE *P. Relictum*.

A. Immunité des Oiseaux.

Essais d'immunisation des Canaris par des sporozoïtes.

Des glandes salivaires de 4 *Culex pipiens* infectés artificiellement, reconnues bourrées de sporozoïtes, sont mises en suspension dans de l'eau citratée. Une portion est chauffée 10' à 50°, puis inoculée le 11 juillet sous la peau d'un Canari neuf, le reste inoculé sans chauffage à un 2e Canari. Aucun symptôme morbide. Le 2e Canari meurt accidentellement. Le 1er Canari reçoit le 28 juillet, sous la peau, les glandes salivaires très infectées de deux *C. pipiens, non chauffées*. Pas d'infection. Le 16 août il est placé dans une cage de *C. pipiens* infectés dont 11 le piquent. Le 21, les premiers *Plasmodium* se montrent dans son sang, deviennent très nombreux le 26, puis diminuent graduellement. Guérison relative comme chez les témoins.

Cette expérience montre que l'inoculation sous-cutanée de sporozoïtes ne donne pas à coup sûr l'infection (2 cas), et qu'un Canari, traité par de très nombreux sporozoïtes vivants, n'est pas immunisé.

B. Immunité des Moustiques.

a) Effet nul de l'acide citrique sur l'évolution du Plasmodium *chez le Moustique.*

Schoo signale, dans son mémoire : La *Malaria in Olanda* [1] que : « *Nei miei primi esperimenti non mi era possibile infettare le anofele col sangue anche pieno di gameti e cominciavo già a credere a questa immunità, quando mi accorsi che causa di questa sterilità era il mangiare della frutta acide prima e dopo la puntura. Non nutrendo le zanzare che coll' acqua chiara e dando loro soltanto quattro giorni dopo la puntura il melone (frutto nè acido ne dolce) il resultato era costantemente positivo, se tutte le altre condizione era buone.* »

Le fait nous a paru assez intéressant pour devoir être vérifié expérimentalement. Nous nous sommes servis de l'acide citrique, qui se trouve dans un grand nombre de fruits.

1. — Dans une 1re expérience, des *Culex* neufs n'étaient nourris, dès leur éclosion, qu'avec du sirop à 2 % d'acide citrique : ce sont les *traités préventivement*.

1. *Atti d. Soc. p. g. Stud. d. Malaria*, t. III, 1902, p. 204.

Le 21 septembre, 10 de ces *Culex* piquent un Canari fortement parasité.

Dans la même nuit, le même Canari est piqué par 22 *Culex* neufs. Le lendemain matin, 11 de ces *Culex* sont placés dans une cage où ils sont nourris exclusivement avec le même sirop citrique, ce sont les *traités curativement*; les 11 derniers *Culex* sont nourris comme d'habitude avec du sirop simple et servent de témoins.

Le 29 septembre (8 jours après, température oscillant entre 24° et 30°), tous les *Culex* survivants sont disséqués :

Traités préventivement :	1 —	30	zygotes	presque mûrs.
	1 —	31	—	dont quelques-uns mûrs (sporozoïtes libres).
	1 —	40	—	dont le 1/3 est mûr (spor. libres).
	1 —	56	—	dont la plupart mûrs (spor. libres, mais aucun dans les glandes salivaires).
	Chez 4 *Culex*	157	zygotes.	(Moyenne de 39 par *Culex*).
Traités curativement :	1 —	92	zygotes	(spor. libres).
	1 —	1	—	non mûr.
	1 —	60	—	au minimum, la 1/2 mûrs.
	1 —	27	—	1 seul mûr.
	1 —	32	—	au minimum, presque mûrs.
	1 —	51	—	1/3 mûrs (spor. libres).
	1 —	30	—	la plupart mûrs (spor. nombreux dans les glandes salivaires.)
	Chez 7 *Culex*	293	zygotes	(Moyenne de 41 par *Culex*).
Témoins :	1 —	33	zygotes	presque mûrs.
	1 —	1	—	non mûr.
	1 —	4	—	
	1 —	0		
	1 —	0		
	Chez 5 *Culex*	38	zygotes	(Moyenne de 7 par *Culex*).

II. — Dans une expérience plus sévère, les *Culex* étaient mis, dès leur naissance, au régime exclusif d'un sirop préparé avec une solution *saturée* d'acide citrique. La plupart des *Culex* succombèrent à la suite de l'ingestion d'une solution aussi forte. Cependant 7 *Culex traités ainsi préventivement* piquèrent le 24 septembre un Canari infecté. Il en mourut 5 les jours suivants (même régime, température de 21° à 26°); des deux survivants, l'un fut disséqué le 8 octobre : assez nombreux petits zygotes, et le second le 9 octobre : zygotes clairs contenant encore du pigment, nombreux surtout dans la dernière portion de l'estomac. Ils mesurent 12 μ de diamètre en moyenne.

Ainsi donc, des doses d'acide citrique capables même de tuer les Moustiques n'empêchent pas l'évolution du *Plasmodium* dans leur corps. Il faut donc chercher une autre explication que l'acidité des fruits à la non-infection des cas de Schoo.

b) Une première atteinte ne confère pas l'immunité aux Moustiques.

Deux *C. pipiens*, restant du lot qui avait piqué un Moineau infecté, avaient infecté ensuite un premier Canari neuf, puis un deuxième Canari neuf; ils piquent le 24 septembre un Canari infecté. L'un d'entre eux est disséqué le 11 octobre, son estomac porte 4 zygotes de 36 μ, sans trace de sporoblastes, plus 5 débris de zygotes. Le deuxième, disséqué le 12 octobre, contient au minimun 60 zygotes de 35 à 40 μ.

Les Moustiques n'acquièrent donc pas l'immunité à la suite d'une première atteinte, dans les conditions ordinaires. Il s'agira à présent de varier ces conditions, pour voir dans quels cas pourrait se réaliser l'hypothèse de A. Celli, de l'immunité acquise des Moustiques vis-à vis du *Plasmodium* pour expliquer les cas *d'anophélisme sans paludisme*.

IV

INFECTION DE « *Stegomyia fasciata* » PAR « *Plasmodium relictum* ».

Un certain nombre seulement d'espèces d'Anophélines sont sensibles au *Plasmodium* humain. D'autre part, les expériences faites avec le *Plasmodium relictum* n'ont porté jusqu'ici que sur quelques espèces du genre *Culex*.

Nous avons recherché si le pouvoir infectant de *Plasmodium relictum* était limité au genre *Culex* et ne s'étendait pas, par exemple, aux *Stegomyia fasciata* trouvés dans les mêmes gîtes que les *Culex* de nos expériences précédentes.

Sur 2 *Stegomyia fasciata* ayant piqué le 21 septembre un Canari fortement parasité, et disséqués le 29 septembre, un n'est pas parasité, mais l'autre porte un zygote bien formé, non encore mûr. Les *Culex* disséqués en même temps figurent sur les tableaux précédents. Quelques-uns de ces *Culex* n'ont pas plus d'un zygote, et certains ne sont pas infectés.

Pl. relictum peut donc parasiter des Moustiques d'un autre genre que les *Culex*. Le fait est intéressant si l'on songe que les entomologistes ont tendance à éloigner beaucoup le genre *Stegomyia* du genre *Culex*.

B. HÉMATOZOAIRES DES RAPACES NOCTURNES

Le grand intérêt qui s'attache aux mémorables travaux de F. Schaudinn[1] sur les générations alternantes, dans le corps de *Culex pipiens*, de deux Hémosporidies des Rapaces nocturnes, *Haemoproteus noctuae*, et *Leucocytozoon ziemanni*, nous a fait entreprendre, en 1904, des recherches de vérification de ces faits nouveaux.

Nos premiers résultats ont été communiqués à la *Société de Biologie* et au *VI*e *Congrès international* de zoologie de Berne (1904)[2]. Nous apportons ici la suite de ces travaux.

Pour nous mettre à l'abri, autant que possible, des causes d'erreur, nous nous sommes placés *sur le terrain expérimental.*

Les expériences suivantes ont été faites à Alger, à une température oscillant entre 24° et 30°. Les Chouettes ont été gardées, dès le jour de leur arrivée, dans des cages grillagées. Les sujets d'expérience n'étaient considérés comme indemnes qu'après deux mois au minimum d'examen à résultat négatif.

Les *C. pipiens* servant à nos expériences sont tous nés au laboratoire, de larves provenant des mêmes gîtes qui nous fournissent des Moustiques depuis 1900.

*
* *

Nous avons examiné en 1906 le sang des Rapaces nocturnes suivants :

	Plasmodium relictum.	*Haemoproteus noctuae.*	*Leucocytozoon ziemanni.*	Filaire.
3 *Strix flammea* ...	1	3	»	»
2 *Syrnium aluco* ...	2	2	1	»
9 *Athene noctua*	2	8	3	2
14 au total	5	13	4	2

1. Generations-und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte*, t. XX, f. 3, 1904, p. 387.

2. *C. R. Soc. de Biol*, t. LVII, p. 164, 23 juillet 1904, et : Evolution des Hématozoaires de l'*Athene noctua*, d'après F. Schaudinn, *C. R.* du *VI*e *Congrès intern. zool. Berne*, 1904, p. 384.

De plus 17 très jeunes *Athene noctua*, élevées depuis le moment où elles ont encore du duvet, ne montrèrent aucun parasite.

A noter que, comme les années précédentes, nous n'avons pas trouvé *Leucocytozoon ziemanni* chez *Strix flammea*, mais seulement chez *Athene noctua* et *Syrnium aluco*.

LEUCOCYTOZOON ZIEMANNI

I

ESSAI D'INFECTION PAR PIQURE DE *C. pipiens* NOURRIS SUR CHEVÊCHE INFECTÉE. RÉSULTAT NÉGATIF

a) *En 1905.*

Trois Chevêches (*Athene noctua*), conservées indemnes, depuis plus de deux mois, sous moustiquaire, sont piquées par des *C. pipiens* (10 à 12 chaque fois) qui, après avoir sucé du sang de Chevêche à *L. ziemanni*, ont été nourris trois fois sur des Canaris neufs.

Ces Chevêches restent indemnes.

b) *En 1906.*

Des *C. pipiens* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* le 14 juillet, puis sur des Canaris normaux le 25 juillet, le 4 août, piquent le 16 août une Chevêche jeune, conservée indemne depuis 32 jours en cage grillagée. Elle reste indemne plusieurs mois.

II

ESSAI D'INFECTION PAR DES *C. pipiens* ISSUS DE MOUSTIQUES NOURRIS SUR CHEVÊCHE INFECTÉE. RÉSULTAT NÉGATIF

Une Chevêche, indemne pendant plus de deux mois sous moustiquaire, est piquée ensuite par des *Culex* nés d'œufs pondus par des *Culex* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* : elle reste indemne jusqu'à sa mort (24 jours après l'inoculation).

III

ESSAI D'INFECTION PAR INOCULATION DU TUBE DIGESTIF DE *C. pipiens* NOURRIS SUR CHEVÊCHE INFECTÉE. RÉSULTAT NÉGATIF

a) *Inoculation de filtrats des organes broyés de Culex* (en raison de l'hypothèse de Schaudinn, émise p. 432 de son mémoire, sur le passage au filtre des petites formes).

17 *C. pipiens* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* sont disséqués le 6 septembre 1906, leurs organes abdominaux et thoraciques mis en

suspension dans l'eau citratée, qui est filtrée à travers une bougie Chamberland F. sous la pression donnée par une poire en caoutchouc. Le *filtrat* est inoculé sous la peau d'une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 1 mois 1/2, le *reliquat* sous la peau d'une autre Chevêche dans les mêmes conditions. Aucun résultat.

b) *Témoins.*

Douze *C. pipiens* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* sont disséqués, à la fin de la digestion, le 8 septembre, et tous leurs organes inoculés à la seringue, sous la peau d'une Chouette conservée indemne depuis 1 mois et demi. Aucun résultat.

IV

Essai d'infection par inoculation sous-cutanée de spirochètes de *C. pipiens*. Résultat négatif

En 1905.

Sur 74 *C. pipiens* ayant sucé du sang de Chevêche à *L. ziemanni*, on en



Fig. 1. — Glande de Malpighi de *Culex pipiens*, avec Spirochètes.

trouve 11, à la fin de la digestion, qui ont les glandes de Malpighi bourrées de Spirochètes, (voir fig. 1).

— Sur 18 *C. pipiens* et 1 *Stegomyia fasciata* ayant sucé du sang de Chevêche à *L. ziemanni*, puis du sang de Canari normal, on n'en trouve aucun avec des Spirochètes à la fin de la digestion.

— Sur 27 *C. pipiens* du même élevage, n'ayant sucé que du sang normal de Canari, aucun ne présentait de Spirochètes à la fin de la digestion.

— Une Chevêche, indemne pendant un mois sous moustiquaire, reçoit par l'inoculation sous-cutanée à la seringue le contenu des glandes de Malpighi infectées de Spirochètes de cinq des *C. pipiens* signalés plus haut. Elle reste indemne jusqu'à sa mort (21 jours après la dernière inoculation).

En 1906.

A. Sur 10 *C. pipiens* nourris sur un *Syrnium aluco, chez lequel on n'a jamais vu*, durant sa captivité (3 mois 1/2) de *L. ziemanni* (un autre *S. aluco* en a toujours montré), on en trouve trois qui, le 6 septembre, à la fin de la digestion, ont leurs glandes de Malpighi bourrées de Spirochètes en tout semblables à ceux de la fig. 1 et à ceux vus par nous en 1904 et 1905.

Les glandes de Malpighi de ces trois *Culex* sont inoculées à la seringue sous la peau d'une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 1 mois 1/2. Aucun résultat.

B. Sur 18 *Culex* nourris le 22 septembre sur une Chevêche à *L. ziemanni* rares et *H. noctuae* nombreux, un seul présente, à la fin de la digestion, en même temps que les fins Trypanosomes dont il sera question plus loin, des Spirochètes.

L'inoculation à une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 2 mois, ne donne aucun résultat.

C. Sur 8 *C. pipiens*, nourris le 24 septembre sur une Chevêche qui durant 3 mois 1/2 n'a montré que des *Haemoproteus noctuae* et des *Plasmodium relictum*, et jamais des *L. ziemanni*, un *Culex* présente, à la fin de la digestion, des Spirochètes.

L'inoculation à une Chevêche neuve, conservée indemne depuis plus de deux mois, ne produit aucun effet. L'inoculation, à une autre Chevêche indemne, du contenu digestif des *Culex* ne présentant rien, ne produit pas non plus de résultat.

D. Un *C. pipiens*, nourri sur une Chevêche à *H. noctuae*, puis sur un Pinson à *Haemoproteus*, présente à la fin de cette dernière digestion, le 26 septembre, dans son intestin, de nombreux Spirochètes à 2 ou 3 tours de spire lâches (donc bien différents des Spirochètes de la fig. 1). Ces Spirochètes sont inoculés à la seringue sous la peau d'une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 2 mois. Aucun résultat.

* * *

Au point de vue expérimental, les recherches que nous poursuivons depuis trois ans pour la vérification des découvertes de Schaudinn sur les générations alternantes n'ont apporté

aucun fait venant à l'appui de son opinion sur le rôle de *Culex pipiens* comme second hôte de *Leucocytozoon ziemanni*.

Au point de vue morphologique, on peut considérer dans la description de Schaudinn :

1° L'évolution de l'ookinète jusqu'au stade Spirochète. Nous n'avons pas revu cette évolution ;

2° L'évolution des Spirochètes. Ici encore, il faut distinguer, ce que n'avait pas encore pu faire Schaudinn dans sa Note préliminaire : *a*), les petits Trypanosomes à forme spirochétienne, qui sont ceux qu'il décrit ; *b*), les Spirochètes vrais, bactériens.

a) Nous n'avons vu qu'une seule fois, chez un *Culex* nourri sur Chevêche à *L. ziemanni*, en 1905, des corps ressemblant à ceux figurés par Schaudinn, p. 431, fig. 17, sous les lettres *d*, *g* et *h*. Ces corps doivent être considérés sans doute comme des Trypanosomes très fins.

b) Les Spirochètes que nous avons observés nous ont toujours paru être des Spirochètes vrais, spiralés et mobiles, et les préparations colorées par les modifications de la méthode de Romanowsky ne nous ont jamais révélé chez eux de structure rappelant celle d'un Trypanosome.

Ce sont des formes spiralées de 3 à 8 tours de spire assez serrés, de 25 à 30 μ de long sur 1 μ de large. On les a trouvées très mobiles dans l'intestin moyen de *Culex* finissant de digérer du sang de Chouette infectée, ou de *Culex* finissant de digérer du sang d'Oiseaux neufs, mais nourris auparavant sur une Chouette infectée. On les trouve aussi, immobiles, réunis en énormes quantités dans les tubes de Malpighi de ces *Culex*. Lorsqu'on écrase ces tubes entre lame et lamelle, dans l'eau citratée, les Spirochètes libérés dans le liquide deviennent mobiles (fig. 2).

Nous avons remarqué que sur 92 *Culex* nourris sur des Chevêches à *L. ziemanni*, 12 (soit 13 0/0), montrèrent des Spirochètes.

Les centaines de *Culex* (provenant des mêmes gîtes), que nous avons disséqués depuis 1902, ne nous ont pas montré ces Spirochètes.

Toutefois, en 1906, se sont présentés les deux cas douteux suivants (voir plus haut) :

1. Un *Syrnium aluco*, n'ayant jamais présenté de *L. ziemanni* à l'examen microscopique, est piqué par 10 *Culex* : 3 ont des Spirochètes.

2. Une *Athene noctua*, n'ayant jamais présenté de *L. ziemanni*, est piquée par 8 *Culex* : 1 a des Spirochètes.

Mais il convient de rappeler que les *Syrnium aluco* et les



Fig. 2. — Spirochètes des glandes de Malpighi de *C. pipiens* (photographie).

Athene noctua sont sensibles à l'infection par *L. ziemanni* et que, d'autre part, le résultat négatif d'examens microscopiques du sang périphérique ne comporte pas, comme conclusion, l'affirmation de l'immunité de l'animal.

Enfin, chez un *Culex* nourri sur une Chouette à *Haemoproteus noctuae* et sur un Pinson à *Haemoproteus* (voir plus haut), nous avons trouvé un autre Spirochète bactérien (à 2 ou 3 tours de spire lâches).

Nous avions déjà vu, en 1901, des Spirochètes différents (1,5 à 4 tours de spire lâches, mesurant 8μ,5 à 17μ de longueur, en moyenne 13μ,5) dans le tube digestif d'une larve d'*Anopheles maculipennis* [1].

1. *C. R. Soc. Biol.*, t. LX, 10 fév. 1906, p. 291.

Nous venons de trouver (mars 1907) dans l'intestin de larves et de nymphes de *Culex pipiens* et de larves de *Theobaldia spathipalpis*, provenant des mêmes gîtes qui nous fournissent nos Culicides à Alger, de nombreux Spirochètes mesurant de 15 à 25 μ de longueur, et de 5 à 10 tours de spire, ceux-ci parfois déroulés. La longueur de l'ondulation mesure 1 μ.7 en moyenne, et son épaisseur 0 μ,8 à 1 μ.3.

Nous rappelons que L. Léger a vu des Spirochètes de 15 à 20 μ de longueur et de 4 à 5 courbures, dans l'intestin de larves de *Chironomus* (*C. R. Ac. Sc.*, 2 juin 1902).

HÆMOPROTEUS NOCTUÆ

I

Essai d'infection par des trypanosomes de *C. pipiens* ayant piqué des chouettes a *H. noctuae*. Un résultat douteux.

Sur 28 *Culex* nourris sur des Chevêches à *H. noctuae*, au mois de septembre, et disséqués à la fin de la digestion, 2 présentent dans la dernière portion de leur intestin moyen des Trypanosomes, soit mobiles, soit en boule à l'état de repos, en tout semblables à ceux que nous avons décrits dans des expériences analogues citées plus haut, et que nous avons rapportés aux formes décrites par F. Schaudinn. Longueur du corps sans le flagelle : 12 à 13 μ, largeur 2 μ,5 à 3 μ. *Dans nos très nombreuses dissections de Moustiques, nous n'avons pas plus retrouvé* cette année que les années précédentes, *les mêmes Trypanosomes chez des Culex n'ayant pas piqué des Chevêches à H. noctuae.*

Le contenu intestinal de chacun de ces deux *Culex* est inoculé à la seringue sous la peau de deux Chevêches conservées indemnes depuis plus de deux mois. Le sang de l'une de ces deux Chevêches nous montra, 5 jours après l'inoculation, une seule jeune forme endoglobulaire probable d'*Haemoproteus* ; puis nous ne vîmes plus rien. L'autre Chevêche ne montra rien.

Témoins : L'inoculation sous-cutanée à trois Chevêches, indemnes, du corps broyé de 26 *Culex* n'ayant pas de Trypanosomes, ne produisit aucun résultat.

II

Essai d'infection par l'inoculation de corps de *Culex* ayant piqué des chevêches a *H. noctuae* (Corps broyés, filtrés ou non filtrés). Résultat négatif.

A. Une dizaine de *Culex* ayant piqué, le 30 août, une Chevêche à *H. noc-*

tuae nombreux, sont disséqués à la fin de la digestion, les organes broyés mis en suspension dans l'eau citratée, qui est filtrée à travers une bougie Chamberland F. Le *filtrat* est inoculé à une Chevèche neuve, le *reliquat* à une autre. Aucun résultat.

B. Une vingtaine de *Culex*, ayant piqué, le 6 septembre, une Chevêche à *H. noctuae*, sont disséqués, et leurs organes broyés, passés à travers une bougie Chamberland. Le *filtrat* est inoculé à une Chevèche indemne, qu'il n'infecte pas. La Chevèche inoculée avec le reliquat meurt accidentellement.

⁂

ISSUE DES GAMÈTES DES HÉMATIES

Les *H. noctuae* adultes entourent complètement le noyau de l'hématie. Nous avons assisté à l'issue des hématies, entre lame et lamelle, de ces formes recourbées sur elles-mêmes jusqu'à fermer l'anneau. On voit les extrémités du gamète, qui se

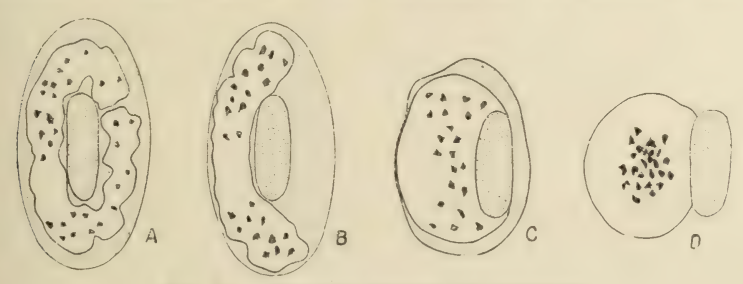


Fig. 3. — Issue des gamètes des hématies.

touchent, s'éloigner l'une de l'autre brusquement, le corps se rétracter très vite, en quelques secondes, autour du point central du parasite qui, devenant très gros, luxe en quelque sorte le noyau de l'hématie qu'il accole à l'autre bord de l'hématie, comme le ferait un *Plasmodium relictum*. L'hématie éclate alors, le gamète se trouve libre, sphérique, et reste encore souvent accolé au noyau de l'hématie. Le processus entier ne dure que quelques secondes.

⁂

Pour ce qui concerne *Haemoproteus noctuae*, nous avions apporté au Congrès de Zoologie de 1904 ce qui nous semblait la preuve cruciale du rôle des *Culex* dans la propagation de ce parasite. L'étude que nous avons faite de l'*Haemoproteus* des Pigeons (voir plus loin), nous ayant montré que des infections à *Haemoproteus* peuvent avoir chez l'Oiseau une incubation supé-

rieure à un mois, fait ignoré jusqu'à présent, nous sommes obligés de réserver l'interprétation des résultats de nos expériences. Cette année nous n'avons pas eu de résultats positifs après l'inoculation aux Chouettes de Trypanosomes (sauf peut-être un cas d'infection légère).

Nous ferons cependant remarquer que dans les très nombreuses dissections que nous opérons depuis 6 ans (1900) de Moustiques provenant des mêmes gîtes, nous n'avons trouvé des Trypanosomes semblables à ceux décrits par F. Schaudinn que chez des *C. pipiens* ayant piqué auparavant des Chevêches, des Effraies ou des Petits-ducs à *H. noctuae* [1].

Si les Trypanosomes du *Culex* n'ont pas de rapport avec les *H. noctuae*, on peut supposer que ceux-ci prennent, dans le corps de l'Insecte, une forme très petite, invisible aux microscopes ordinaires. Les expériences relatées plus haut n'apportent aucun fait à l'appui de cette idée d'un virus passant au filtre.

C. HÆMOPROTEUS COLUMBÆ KRUSE 1892
(= *Halteridium* = *Haemamœba danilewskyi*, p. p.)

Le second hôte des Hémosporidies du genre *Haemoproteus* est resté inconnu jusqu'au moment où F. Schaudinn montra l'évolution, par générations alternantes, de l'*H. noctuae* dans le corps de *Culex pipiens*. Nous confirmâmes expérimentalement cette découverte en 1904.

Mais, nous étant occupés de l'*Haemoproteus* du Pigeon algérien, qui est extrêmement fréquent, nous ne pûmes jamais constater son évolution dans le corps des Moustiques algériens qui peuvent piquer le plus souvent les Oiseaux. De semblables résultats négatifs avaient été constatés par nos prédécesseurs, en Italie, et aux Indes (James) [2].

TRANSMISSION PAR LE *Lynchia maura*.

Nous eûmes alors l'idée de poursuivre nos expériences, non avec des Moustiques, mais avec des Hippoboscides, communs sur les Pigeons algériens, et que M. le Dr P. Speiser a bien

1. Pour la description de ces Trypanosomes, voir notre précédent travail : *VIe Congrès intern. de Zool.*, Berne, 1904, p. 386.

2. Malaria in India. *Sc. memoirs by the off. of the med. and. sanit. departm. of the Governm. of India*, n. s., no 2, 1902.

voulu nous déterminer comme *Lynchia maura*, Bigot 1885 [1]. (Voir : planche VI.)

Bigot avait décrit cette espèce sous le nom de *Olfersia maura* [2] :

Antennis castaneis, flavido setosis : epistomate et vertice testaceis, fronte fusca, utrinque nitida : thorace fusco nigro, vix nitente, humeris scutelloque sordide fulvis : abdomine obscure infuscato, segmento 2° apice fulvo marginato; pedibus testaceis, femoribus superne parum infuscatis, nigro parce setosis, posticis, externe, linea tenui, fuscana, notatis; alis fere hyalinis, venis, costali, longitudinalibus 1-4is, omnino, 5a, usque ad transversam 1am nigram, nigro tinctis.

Les *Lynchia maura* parasitent surtout les jeunes Pigeons de 15 à 20 jours dont les plumes commencent à pousser. On les trouve fréquemment au nombre de 50 à 60 sur un Pigeonneau. Ils sont par contre rares sur les Pigeons adultes. Les éleveurs savent que leur grand nombre rend malades et fait maigrir les Pigeons. En particulier les couveuses, agacées par la présence des Mouches, font de brusques mouvements qui cassent leurs œufs.



Fig. 4. — Pupe de *Lynchia maura* fraîchement pondue.

Les *Lynchia* sont toujours cachés dans le plumage, leur corps aplati leur permet de se glisser sous les plumes. Ils y sont à une température voisine de 42°. Ils s'envolent si les Oiseaux s'ébrouent fortement, ou sont pris à la main. Ils changent d'hôtes facilement. Leur vol est très rapide et rectiligne.

Les *Lynchia maura* paraissent ne pas pouvoir vivre sur d'autres Oiseaux que les Pigeons (voir plus loin l'expérience faite sur des Canaris). Ils meurent le plus souvent au bout de 48 heures de captivité loin des Pigeons.

La copulation des *Lynchia* a lieu au repos ou pendant le vol et dure fort longtemps, la femelle écarte les ailes pour permettre l'accès du mâle.

La pupe, ovoïde, est pondue blanche, avec une tache noire en forme d'étoile à 6 branches à un pôle. Elle devient complètement noire en une heure. Elle mesure 3 millimètres sur 2 millimètres et demi environ. (Fig. 4.)

Elle est pondue dans la poussière sèche des pigeonniers, jamais dans la colombine humide. En cage, les *Lynchia* recherchent pour pondre les endroits secs, et nous avons trouvé une fois une quinzaine de pupes entassées sur une petite corniche accidentelle d'un des montants de la cage. Dans la criblure de grains dont nous nourrissions nos Pigeons en Algérie, nous avons observé des graines végétales ressemblant à l'œil nu d'une façon frappante à des pupes de *Lynchia*. La distinction ne pouvait se faire qu'au microscope : la surface des pupes est marquée d'un très fin réseau à mailles hexagonales qui lui donne l'aspect d'un maroquin écrasé, tandis que la surface des graines est uniformément lisse. (Fig. 5.)

1. Nous devons à l'obligeance de plusieurs propriétaires algériens d'avoir pu nous procurer un grand nombre de ces Hippoboscides. Nous les remercions vivement ici, et en particulier M. Ricci, minotier à l'Agha, et son contremaître M. Verdu, qui a mis le plus affable empressement à nous faciliter nos expériences.
2. *Ann. Soc. entomol. de Fr.*, 6e série, t. V., 1885, p. 237.

La pupe éclot au bout de 23 à 28 jours, lorsqu'elle est gardée à la température du laboratoire (24° à 30°). Des pupes gardées à la température de 42°, qui est celle que l'on constate sous le plumage des Pigeons, n'ont pas éclos, dans plusieurs expériences.

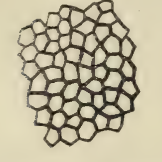


Fig. 5. — Réseau dessiné à la surface de la pupe de *Lynchia maura*.

Les *Lynchia maura* sont très souvent parasités par les œufs, les larves et les adultes femelles d'un Sarcoptide nouveau, appelé *Myialges anchora* par le Pr Trouessart [1]. Ce Sarcoptide est plus voisin de ceux qui parasitent les Mammifères que de ceux qui parasitent les Oiseaux.

***

Les Pigeons dont nous nous sommes servis proviennent tous du marché de Paris : depuis de longues années, tous les Pigeons achetés par les laboratoires de l'Institut Pasteur se sont montrés indemnes d'*Haemoproteus*. Nos Pigeons étaient tenus, de plus, en observation pendant quelque temps, pour que nous puissions nous assurer de leur non-infection. La même cage n'a jamais servi à deux expériences. Toutes les cages étaient grillagées.

I. Le 20 août 1905, est instituée à Alger l'expérience suivante, avec 3 Pigeons parisiens tenus en observation depuis le 1er février 1905 :

Dans une première cage grillagée sont placés : un Pigeon parisien indemne, un Pigeon algérien fortement parasité, une quinzaine de *Lynchia* ;

Dans une seconde cage grillagée : un Pigeon parisien indemne, un Pigeon algérien fortement parasité, sans Hippoboscides :

Dans une troisième cage semblable : un Pigeon parisien indemne, témoin.

Le 8 octobre, le Pigeon parisien de la première cage montre dans son sang de jeunes *Haemoproteus* (de quelques μ de diamètre et sans pigment). Les jours suivants, les parasites grossissent et contiennent du pigment à partir du 12 octobre. L'infection continue normale.

Les Pigeons parisiens des deux autres cages restèrent indemnes.

II. Dans la cage grillagée d'un Pigeon parisien, isolé depuis le 25 octobre 1905, et conservé à Paris dans une étuve à 24°, sont lâchés, le 15 novembre, un *Lynchia*, le 24 novembre, 2 autres *Lynchia*, ces trois Diptères ayant été prélevés à Alger sur des Pigeons infectés. Le 6 février apparaissent quelques *Haemoproteus* dans le sang du Pigeon (infection restée faible).

III. Un Pigeon parisien indemne fait le voyage d'Alger à Paris, le 14 novembre 1905, dans une cage grillagée avec deux Pigeons voyageurs infectés et couverts de *Lynchia*, dont il n'est séparé que par une cloison non étanche. Les Pigeons voyageurs morts pendant le voyage sont quittés par les *Lynchia*. Le Pigeon parisien montre des *Haemoproteus* dans son sang, le 23 janvier 1906 (infection faible).

1. La description de *Myialges anchora* a paru dans les *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LXII, p. 443, 16 mars 1907.

IV. Trois Pigeons parisiens indemnes, isolés depuis le 7 février 1906, dans une cage grillagée, y reçoivent le 13 mai 3 *Lynchia* et le 14 mai 8 *Lynchia* capturés sur des Pigeons algériens infectés pour la plupart. Les 3 Pigeons parisiens sont reconnus infectés respectivement le 14 juin, le 25 juin et le 9 juillet.

V. Le 14 juin 1906, deux *Lynchia* pris sur un Pigeon infecté sont mis dans la cage grillagée de deux Pigeons parisiens indemnes : l'un de ces pigeons se montre infecté le 5 août, l'autre le 17 août.

VI. Le 14 juin, trois *Lynchia* de la même origine sont mis dans la cage grillagée de trois Pigeons parisiens indemnes : deux de ces Pigeons se montrèrent infectés le 5 août, le troisième ne fut jamais infecté. A noter que les 3 Mouches étaient mortes vers le début de juillet. Peut-être n'ont-elles pas piqué le troisième Pigeon ?

Ces dix résultats positifs permettent donc d'affirmer le rôle des "Lynchia maura" *dans la propagation de l'* "Haemoproteus" *du Pigeon*[1].

Ayant été frappés de la longue incubation (c'est-à-dire du long intervalle entre la piqûre des *Lynchia* et l'apparition des gamètes dans le sang périphérique), de tous les cas relatés ci-dessus, nous avons voulu obtenir un chiffre exact. Dans ce but nous avons procédé à l'expérience suivante :

VII. Le 14 août, 4 Mouches prélevées sur un Pigeon infecté sont mises dans la cage grillagée d'un premier Pigeon parisien indemne. Le 17 août (trois jours après), ces 4 Mouches sont retirées et mises dans la cage d'un deuxième Pigeon parisien indemne, dont elles sont retirées de nouveau 24 heures plus tard. Le premier Pigeon montre dans le sang périphérique les premiers très jeunes *Haemoproteus* le 20 septembre, et le deuxième, le 24 septembre.

L'incubation de l'infection par les Lynchia *a donc été chez un Pigeon, de 34 à 37 jours, et chez un autre de 38 jours.*

On peut tirer un autre enseignement de cette expérience. Il est certain que les quatre premières Mouches ont toutes piqué le premier Pigeon indemne, car nous savons qu'un *Lynchia* vit rarement plus de 24 heures quand il est séparé du Pigeon. Or les *Lynchia* sont restés 3 jours dans la première cage.

On peut donc conclure que des Lynchia *qui ont infecté un premier Pigeon, portent encore assez de virus pour en infecter un second, 4 jours après avoir quitté un Pigeon infecté.*

Il est vrai que chez le second Pigeon l'incubation a été un

1. Il faut ajouter à ces dix cas positifs ceux qui sont rapportés ci-dessous. De plus, nous avons encore infecté plusieurs Pigeons, à Paris, durant l'hiver 1906-1907, avec des *Lynchia maura* envoyés d'Alger.

peu plus longue. On peut rapprocher ce durable pouvoir infectant de celui dont nous avons montré l'existence, dans ce même mémoire, chez les *Culex pipiens* infectés par le *Plasmodium relictum*.

*
* *

Pas de transmission héréditaire de l'infection chez les Lynchia.

Nous nous sommes demandé si l'infection est héréditaire chez les *Lynchia*.

VIII. Dix-sept *Lynchia*, éclos de pupes pondues par des femelles sûrement infectées au laboratoire, sont mis du 7 juillet au 2 octobre dans la cage de deux Pigeons parisiens indemnes. Ni l'un ni l'autre de ces Pigeons ne fut infecté.

Il est donc fort douteux que l'infection des *Lynchia* passe à leur descendance.

*
* *

Non-infection des Pigeons par ingestion des Lynchia.

Ayant remarqué que les Pigeons infestés de *Lynchia* les pourchassent à coups de bec, nous nous sommes demandé s'ils pouvaient s'infecter par ingestion de Mouches.

IX. Du 26 juillet au 9 août, nous fîmes avaler 33 *Lynchia* vivants, provenant de Pigeons infectés, à un Pigeon parisien indemne, qui ne devint jamais infecté.

Ce mode d'infection n'est donc pas probable.

*
* *

ÉVOLUTION D'*Haemoproteus Columbae* CHEZ *Lynchia maura*.

On voit assez facilement les ookinètes dans la dernière portion de l'intestin moyen de la Mouche, où le sang est en partie digéré, et le noyau des hématies seul encore reconnaissable.

L'ookinète mesure de 20 à 23 μ de longueur sur 2 μ 5 à 3 μ de largeur. Le pigment est ramassé dans le tiers postérieur. Le noyau n'est pas tout à fait au milieu, mais un peu en arrière (son épaisseur = 2 μ 5, sa distance de l'extrémité antérieure = 10 μ, de l'extrémité postérieure = 8 μ). Le mouvement se fait dans le sens de la longueur, la partie pigmentée, comme on vient de le dire, étant postérieure. Cette ookinète est le plus souvent recourbée : l'aspect le plus fréquent est celui d'une crosse. (Voir Planche VII, fig. 6 et 7).

* * *

Nous n'avons pas réussi à suivre l'évolution ultérieure du parasite chez le *Lynchia*. Pour nous assurer que les préparations, dans lesquelles le microscope ne nous faisait rien reconnaître, contenait le virus, nous avons institué les expériences suivantes :

X. Un *Lynchia* prélevé sur un Pigeon très infecté est disséqué le 27 juillet, les organes abdominaux et thoraciques sont mis en suspension dans de l'eau citratée (vérification au microscope) et inoculés à la seringue *dans la veine* d'un Pigeon parisien neuf. Les premiers très jeunes *Haemoproteus* se montrent dans son sang périphérique le 25 août 1906.

Une inoculation intra-veineuse analogue est faite le 5 novembre à 5 Pigeons. Ils sont tous infectés le 3 décembre, et le 22 novembre à un autre Pigeon, qui montre des gamètes le 20 décembre.

XI. Le 5 novembre, en même temps que des Pigeons sont inoculés dans les veines avec le broyage de corps de *Lynchia* infectés, un autre Pigeon est inoculé *sous la peau* avec le même broyage. L'infection suit chez lui le même cours que chez les premiers, après une incubation de durée équivalente.

Les préparations dans lesquelles nous ne reconnaissions pas une évolution ultérieure des ookinètes contenaient donc un virus inoculable au Pigeon.

De plus, nous voyons que l'incubation de l'infection donnée par le virus inoculé dans les veines ou sous la peau est de 28 ou 29 jours, chez ces 8 Pigeons. On verra plus loin (expériences XII, XIII et XIV), trois autres cas d'incubation de 28 jours.

(Nous devons noter 2 autres cas, en automne 1906, où l'incubation a été de 45 jours.)

Pour faire suite à l'expérience ci-dessus, nous avons recherché si ce virus n'entrait pas dans la catégorie des virus dits invisibles, passant aux filtres :

XII. Quatorze *Lynchia* pris sur un Pigeon fortement parasité sont disséqués le 9 août, leurs organes écrasés et mis en suspension dans l'eau citratée, qui est filtrée à travers une bougie Chamberland F par pression à l'aide d'une poire en caoutchouc. Le filtrat est inoculé dans les veines à un premier Pigeon parisien neuf, le reliquat à un second et à un troisième Pigeons parisiens neufs. Ce troisième seul se montra infecté le 6 septembre (28 jours d'incubation).

XIII. Deux Mouches prélevées sur un Pigeon très infecté sont disséquées le 26 août, leurs organes écrasés mis en suspension dans de l'eau citratée qui est filtrée comme ci-dessus à travers une bougie Chamberland F. Le filtrat est inoculé dans les veines d'un premier Pigeon parisien neuf, le reliquat dans les veines d'un second Pigeon parisien neuf. Ce second Pigeon seul

montre les premiers jeunes *Haemoproteus* le 23 septembre (28 jours d'incubation).

Il est donc probable que le virus ne peut pas traverser la bougie Chamberland F (2 filtrats ne sont pas infectants, 2 reliquats sur 3 sont infectants).

XIV. Trois essais de filtration à travers des *bougies Chamberland spéciales*, à débit plus fort que celui des précédentes, furent ensuite faits : le filtrat des corps broyés de 3 *Lynchia* infectés à travers une bougie *spéciale* F n° 475, fut inoculé à 2 Pigeons. Le filtrat obtenu à travers une bougie *spéciale* H n° 450 fut inoculé à un autre Pigeon. Enfin une goutte du liquide obtenu par le broyage fut inoculé à un Pigeon témoin. Celui-ci montra au bout de 28 jours de nombreux gamètes dans son sang périphérique.

Les trois premiers Pigeons, surtout les deux premiers, montrèrent, au bout de quelques semaines, de petits granules dans leurs hématies, ressemblant à de très jeunes *Haemoproteus*, mais jamais de gamètes bien caractérisés.

Nous avons refait les mêmes expériences avec des bougies Berkefeld.

XV. Le 7 septembre, dix *Lynchia* pris sur un Pigeon infecté sont disséqués, leurs organes écrasés mis en suspension dans l'eau citratée qui est filtrée à travers une bougie Berkefeld. Le filtrat est inoculé dans les veines d'un premier Pigeon parisien neuf, le reliquat dans les veines d'un deuxième Pigeon parisien neuf. Le 13 octobre (36 jours d'incubation) de très jeunes formes d'*Haemoproteus*, rares, apparaissent dans le sang périphérique du premier Pigeon. (Planche VII, fig. 1). Elles augmentent de volume les jours suivants, en restant rares, puis aucune forme parasitaire n'est vue. On verra plus loin ce que l'on peut penser de ce phénomène [1].

1. Pendant les quelques jours où nous avons vu de très jeunes *Haemoproteus* chez ce Pigeon, nous avons aussi trouvé, dans les mêmes préparations de sang, d'assez nombreux *Herpetomonas* (figurés dans la Planche VII fig. 9 et 10).

Leur corps, étroit et effilé, est coloré en rose pâle par le Romanowsky et mesure de 17 μ à 22 μ de longueur, sur 1 μ 5 environ de largeur. Le flagelle, également rose pâle, et sans membrane ondulante, mesure de 19 μ à 35 μ de longueur. Le noyau, allongé, n'occupant pas toute la largeur du corps, mesure de 5 à 7 μ de longueur et est situé à 6 à 7 μ de l'extrémité postérieure du corps. Le centrosome, gros, sphérique, et plus fortement coloré que le noyau, est situé à 3 μ 5 en avant du noyau.

Ces *Herpotomonas* n'ont pas été retrouvés depuis cette époque dans le sang de ce Pigeon (mars 1907).

En raison de leur aspect général, nous nous sommes demandé si ces *Herpetomonas* n'étaient pas des spermatozoïdes ayant passé dans le sang du Pigeon sous l'influence d'une cause inconnue. Nous avons donc coloré par la même méthode des spermatozoïdes de Pigeon, en ayant soin de mettre les spermatozoïdes en contact avec du sang de Pigeon, avant la coloration. Celle-ci laisse les queues des spermatozoïdes incolores, tandis qu'elle colore les flagelles des *Herpetomonas*. La tête du spermatozoïde mesure en moyenne 17 μ (formes géantes = 27 μ), est colorée d'une façon uniforme par les colorants nucléaires, et, comme on le sait, ne présente pas de pièce moyenne. La queue du spermatozoïde mesure 85 μ, tandis que le flagelle de l'*Herpetomonas* ne dépasse pas 35 μ.

Le second Pigeon reste indemne.

D'autres filtrats obtenus à travers une bougie Berkefeld furent encore inoculés : le 25 octobre à un Pigeon, le 5 novembre à deux autres Pigeons. Au bout d'un mois environ, les hématies présentèrent de petits granules, pendant quelques jours, mais jusqu'en février 1907, les gamètes ne sont pas apparus.

En résumé, le virus a passé, une seule fois sur quatre essais, par filtration à travers une bougie Berkefeld. Cet unique résultat positif ne permet de tirer aucune conclusion pour le moment. A noter l'apparition passagère de granules intraglobulaires ressemblant à de très jeunes *Haemoproteus*, chez les Pigeons inoculés avec des filtrats du virus.

*
* *

ÉVOLUTION D'*Haemoproteus Columbae* CHEZ LE PIGEON. GUÉRISON SPONTANÉE.

En raison de la longue incubation de l'infection chez le Pigeon : 28 à 29 jours par inoculation sous-cutanée ou intraveineuse, 34 à 38 jours par infection par piqûre du *Lynchia*, nous avons pensé qu'il y aurait lieu de chercher si le virus n'évoluait pas sous une forme particulière dans les organes internes du Pigeon. Cette idée était corroborée par ce fait que l'on ne connaît que des formes sexuées dans le sang périphérique des Pigeons. Nous n'avons encore rien vu dans nos examens miroscopiques, et les expériences suivantes ne nous ont donné aucun renseignement :

XVI. — Le 1er septembre, du sang périphérique d'un Pigeon très infecté est injecté tel quel dans les veines d'un Pigeon parisien neuf. Le sang du même Pigeon, dilué dans plusieurs fois son volume d'eau citratée, filtré à travers une bougie Chamberland F, est injecté dans les veines d'un second Pigeon parisien neuf : aucun résultat.

XVII. — Le même Pigeon infecté étant sacrifié, on inocule la moitié de sa rate dans le péritoine d'un premier Pigeon parisien neuf; l'autre moitié, mise en suspension, filtrée à travers une bougie Chamberland F, est inoculée dans le péritoine d'un second Pigeon neuf : aucun résultat.

Les très jeunes *Haemoproteus* qui apparaissent à l'intérieur des hématies de Pigeons après une si longue incubation ne mesurent pas plus de 1 à 2 μ de diamètre. Ils sont de forme

Les spermatozoïdes des *Lynchia maura* ont une tête ressemblant à celle des spermatozoïdes de Pigeon, et une queue beaucoup plus étroite et plusieurs fois plus longue.

Il semble donc bien que ces *Herpetomonas* sont des parasites du Pigeon. Celui-ci a toujours vécu en cage grillagée.

triangulaire, quadrilatérale ou ronde, et situés en un point quelconque du protoplasma. Trois ou quatre jours après leur apparition, ils ont grandi et mesurent 8 μ environ dans leur plus grande longueur. Ils commencent alors à contenir du pigment. Leur forme est à ce moment très irrégulière, les bords déchiquetés rappellent parfois l'aspect classique d'*Haemoproteus noctuae*. Ils coiffent parfois une des extrémités de l'ellipse du noyau, au lieu d'être allongés suivant la plus grande dimension de l'hématie, comme les gamètes adultes. Très souvent, plusieurs jeunes formes sont dans une même hématie. Elles prennent faiblement la couleur. Les très jeunes formes, colorées, ressemblent beaucoup aux petites formes annulaires du *Plasmodium* de l'homme : bague bleue à chaton rouge. Les formes moyennes ont le protoplasma coloré par bandes bleues et incolore par places. On trouve tous les intermédiaires jusqu'à l'aspect bien connu des gamètes adultes. Voir Planche VII, fig. 1, 2, 3, 4, 5.

FAIT CONSTANT ET REMARQUABLE : *Au fur et à mesure que les jeunes formes grandissent, elles deviennent plus rares dans le sang périphérique.*

C'est à ce phénomène que nous faisions allusion à propos de l'expérience XV. Nous avions vu les jeunes formes assez nombreuses seulement pendant 3 jours, puis ayant dû suspendre l'examen pour des raisons indépendantes de notre volonté, nous ne les avons plus retrouvées huit jours plus tard, alors que les formes auraient dû devenir adultes. Dans tous nos autres cas (inoculation de virus non filtré ou piqûre de *Lynchia*) les jeunes formes étaient au début très nombreuses ou extrêmement nombreuses, souvent plusieurs dans une hématie, toujours plusieurs par champ d'immersion ; dans les huit jours qui suivaient, les formes adultes n'apparaissaient plus que peu nombreuses ou rares.

Dans les mois suivants, les Pigeons étant tenus toujours à l'abri des réinfections, les gamètes devenaient parfois très rares.

Il y a ainsi souvent guérison spontanée, le plus bel exemple est le suivant :

XVIII. — Un Pigeon inoculé dans les veines le 26 août 1906 avec le broyage d'un *Lynchia* infecté montre les premiers très jeunes *Haemoproteus*

dans son sang le 23 septembre. Le 29 septembre les gamètes sont presque adultes. Le 5 octobre ils sont adultes, mais peu nombreux, le 23 octobre ils ne sont plus que rares. A partir du 1er novembre jusqu'à notre dernier examen (février 1907) on ne les trouve plus.

D'autre part : *le degré d'infection d'un Pigeon est généralement en rapport avec le nombre de Mouches qui l'ont piqué ou qu'on lui a inoculées.*

***

ACTION DE LA QUININE

L'observation de la guérison spontanée nous a donné l'idée d'expérimenter l'action de la quinine sur *Haemoproteus columbae*, dans le but de guérir plus vite les Pigeons.

Nous nous sommes servis d'une solution de bichlorhydrate de quinine à 6 pour 1000 dans l'eau distillée (1 c.c. contenant 6 milligrammes de sel), et nous avons voulu connaître d'abord la dose minima mortelle.

XIX. — Le 10 août, un Pigeon adulte à *Haemoproteus* non rares reçoit sous la peau 48 milligrammes de quinine. Le 11, il va bien, les *Haemoproteus* sont encore « non rares ». Il reçoit sous la peau 128 milligrammes. Il meurt en quelques minutes, dans des convulsions. A l'autopsie : organes congestionnés. Avant la mort, l'examen du sang avait montré que le pigment des gamètes était plus dispersé que normalement, leur colorabilité était diminuée.

XX. — Un Pigeon adulte, à *Haemop.* nombreux, reçoit sous la peau les 13, 14, 15, 17 août, 48, 48, 66, 90 milligrammes. Il meurt 20 minutes après cette dernière injection, dans des convulsions. Durant ces 4 jours les *Haemoproteus* n'avaient pas été influencés par la médication (comparaison avec un Pigeon témoin).

Nous avons donc résolu de nous en tenir à la dose de 60 milligrammes, comme étant proche de la dose mortelle.

XXI. — Un Pigeon reconnu infecté le 5 août a de *nombreux Haemoproteus* jusqu'au 5 septembre. A cette date, il reçoit sous la peau 60 milligrammes de quinine. Le 10 septembre les parasites sont encore nombreux : 2e injection de 60 milligrammes. A partir du 22 septembre les parasites ne sont plus que rares ou non rares, 3e injection le 22 septembre, 4e le 25 octobre. Les *Haemop.* subsistant toujours non rares (dernière observation : février 1907).

XXII. — Un Pigeon reconnu infecté le 17 août n'a jamais eu que de *rares* gamètes jusqu'au 10 septembre. A cette date il reçoit pour la première fois 60 milligrammes de quinine sous la peau, à partir du 22 septembre on ne trouve plus de parasites dans son sang. Il reçoit une 2e et une 3e injection les 22 septembre et 25 octobre. Réinoculé dans les veines avec le broyage du corps d'un *Lynchia* le 5 novembre, il montre à partir du 5 décembre une faible quantité de gamètes dans son sang périphérique, et n'en montre plus à partir de fin janvier.

XXIII. — Un Pigeon reconnu infecté le 25 juin 1907 a de *nombreux* gamètes dans le sang périphérique jusque vers le milieu d'août, ils deviennent alors « *rares* » « ou « *non rares* ». Il reçoit une injection de quinine le 22 septembre (60 milligrammes) une 2[e] le 25 octobre, le nombre de gamètes ne change pas (février 1907).

Son témoin, reconnu infecté le 9 juillet a des gamètes *assez nombreux* jusque vers le milieu d'août. Ils deviennent *rares* à partir de ce moment. A partir du 25 octobre, ils redeviennent *assez nombreux*.

L'action de la quinine se montre nulle dans les expériences XXI et XXIII. La résistance du Pigeon dans l'expérience XXII peut être attribuée à une propriété individuelle autant qu'à la quinine car nous avons noté plus haut qu'un certain nombre de Pigeons guérissent sans traitement de leur infection. (Voir observations XVIII.)

L'expérience XXII nous montre de plus qu'un Pigeon paraissant guéri de son infection n'a pas résisté à une nouvelle inoculation, mais a guéri rapidement de cette deuxième infection.

***

EXPÉRIMENTATION AVEC D'AUTRES OISEAUX

Nous avons essayé d'infecter des Canaris par la piqûre de *Lynchia maura*.

XXIV. — Deux *Lynchia maura* pris sur un Pigeon très infecté sont mis dans la cage grillagée de deux Canaris le 13 août à 5 heures du soir; on les observe à fréquentes reprises. A aucun moment, ils ne se jettent sur les Canaris; le lendemain une Mouche meurt. Au bout de 24 heures on enlève l'autre Mouche qui ne s'est jamais posée sur les Canaris.

Nous pensons que cet exclusivisme des Lynchia maura *impose la conception de la diversité des espèces d'Haemoproteus qui infectent les différents Oiseaux, si du moins les autres Hippoboscides d'Oiseaux sont aussi exclusifs. En tout cas, il est nécessaire de faire une espèce particulière de H. columbae.*

A défaut de la piqûre du *Lynchia*, nous avons inoculé à la seringue, sous la peau, un Canari, avec comme témoin un Pigeon : résultat négatif. Dans une autre expérience, une Poule fut inoculée dans les veines : résultat négatif.

XXV. — Le 26 septembre deux Mouches prélevées sur un Pigeon très infecté sont disséquées, le broyage est mis en suspension, inoculé *sous la peau* d'un Canari neuf. Celui-ci n'est pas infecté.

XXVI. — Une Poule inoculée dans les veines le 5 novembre avec le broyage de *Lynchia* infectés n'est pas infectée. Les Pigeons témoins, inoculés de même, sont tous infectés.

*
* *

HAEMOPROTEUS DU MOINEAU PÈLERIN D'ALGÉRIE

Presque tous les Moineaux des campagnes algériennes que nous avons examinés étaient infectés par un *Haemoproteus*, dont les gamètes sont en général fréquents dans le sang périphérique ; la plupart sont infectés aussi par des *Plasmodium relictum* (*Proteosoma*) et des Filaires. Nous ne nous occuperons, dans ce qui suit, que de l'*Haemoproteus*.

Les caractères morphologiques de ses gamètes rappellent ceux d'*Haemoproteus noctuae* par la dentelure et l'irrégularité de leurs bords.

Nous avons recherché si le second hôte de cet *Haemoproteus* est le Moustique qui pique le plus souvent les Oiseaux : *Culex pipiens*. Quelques expériences ont eu lieu aussi avec le *Theobaldia spathipalpis*, dont quelques-uns ont piqué une première fois nos Oiseaux, mais jamais une seconde fois.

On pouvait chercher si l'évolution hypothétique de l'*Haemoproteus* du Moineau chez le *Culex* suivait l'un des deux modes connus pour d'autres *Hémosporidies*.

A. Comme *Plasmodium relictum*, les sporozoïtes passant dans les glandes salivaires de l'Insecte environ une semaine après la piqûre (à 22-25°).

B. Comme *Haemoproteus noctuae*, d'après Schaudinn, l'évolution de la génération alternante n'étant terminée chez l'Insecte qu'après plusieurs « nourritures ».

A. *Canaris sujets piqués par des Moustiques ayant piqué plus de 8 jours auparavant un Moineau. Résultat négatif.*

I. — Un Canari neuf est piqué le 22 mai par 58 *Culex pipiens* ayant piqué le 9 mai (11 jours avant), un Moineau très infecté, 0 résultat.

II. — Un Serin neuf est piqué le 30 mai par 18 *C. pipiens* ayant piqué le 22 mai (8 jours avant) un Moineau très infecté, 0 résultat.

III. — Un Canari est piqué le 7 juin par 22 *C. pipiens* ayant piqué le 22 mai (16 jours avant) un Moineau très infecté, 0 résultat.

IV. — Un Serin est piqué le 25 juillet par 10 *C. pipiens* ayant piqué le 19 juin (36 jours avant) un Moineau très infecté, 0 résultat.

B. *Canaris sujets piqués par des Moustiques ayant piqué auparavant : 1° un Moineau infecté, puis 2° un Canari neuf. Résultat négatif.*

V. — Un Canari neuf est piqué le 7 juin par 36 *C. pipiens* déjà nourris :

1° sur un Moineau infecté; 2° sur un Canari neuf (huit jours d'intervalle entre chaque piqûre représentent la durée normale de la digestion). 0 résultat.

VI. — Un Canari neuf est piqué le 24 juin par 12 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

VII. — Un Canari neuf est piqué le 25 juillet par 15 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

VIII. — Un Canari neuf est piqué le 8 août par 11 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

IX. — Un Serin neuf est piqué le 16 août par 3 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

C. *Canaris, sujets piqués par des Moustiques ayant piqué auparavant : 1° un Moineau infecté; 2° un premier Canari neuf; 3° un deuxième Canari neuf. Résultat négatif.*

X. — Un Canari neuf est piqué le 23 juin par 4 *C. pipiens*, dans ces conditions. 0 résultat.

XI. — Un Canari neuf est piqué le 25 juillet par 15 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

XII. — Un Canari neuf est piqué le 8 août par 2 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

XIII. — Un Canari neuf est piqué le 16 août par 2 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

L'insuccès des 13 expériences envisageant les deux modes possibles, par analogie, de l'évolution de l'*Haemoproteus* du Moineau dans le corps de *C. pipiens*, peut être rapproché de l'insuccès semblable qui a marqué tous nos essais de transmission de l'Haemoproteus du Pigeon par le *C. pipiens*. Si l'on considère, au contraire, le succès des tentatives de propagation de l'*H.* du Pigeon par le *Lynchia maura*, on peut conclure qu'*il est très probable que l' « Haemoproteus » du Moineau, et en général toutes les différentes espèces d'* « Haemoproteus » *des Oiseaux* (sauf probablement *H. noctuae*) *ont comme second hôte des Hippoboscides, dont on connaît l'existence si fréquente sur les Oiseaux.*

* * *

HAEMOPROTEUS DU VERDIER

Un Verdier, *Passer chloris*, infecté par un *Haemoproteus*, est gardé dans une cage depuis 3 ans (1903-1906) en compagnie de Canaris qui ne se sont jamais infectés.

Après 3 ans, ce Verdier, mis à l'abri de toute chance de réinfection, est encore infecté et à peu près au même degré.

D. TRYPANOSOME DE L'HIRONDELLE

Nous avons vu à l'état frais, plusieurs fois depuis 1903, dans le sang d'Hirondelles d'Algérie, un Trypanosome *toujours très rare*. (Hirondelles capturées dans les 3 départements : plaine de la Macta, plaine de la Mitidja, vallée du Sébaou, en Kabylie, plaine de Bougie, Hauts-Plateaux de Sétif.)

Ce Trypanosome mesure à l'état frais 22 μ de longueur sur 4 μ environ de largeur. L'extrémité postérieure est pointue et se tord de tous côtés assez vivement. La membrane ondulante est large et apparaît tantôt à droite, tantôt à gauche du corps pendant les mouvements du flagelle. Le Trypanosome se déplace le flagelle en avant, et est capable de quitter le champ du microscope.

Jamais nous n'avons pu retrouver sur les préparations colorées les Trypanosomes vus à l'état frais.

Dans l'impossibilité où nous étions de recourir à la méthode expérimentale par inoculation à des animaux de même espèce, nous avons essayé de cultiver ce Trypanosome pour pouvoir l'étudier.

Le 9 mai 1906, le sang de 12 Hirondelles de l'Habra est ensemencé dans autant de tubes de gélose au sang de Lapin préparé selon la formule de Novy et Mac-Neal (mais sans défibriner le sang). A l'examen microscopique aucune de ces Hirondelles ne présentait de parasite dans le sang.

Un seul de ces tubes donne une culture de Flagellés qui fut réensemencée les 6 juin et 11 juin (2e culture).

Une 3e culture fut faite le 23 juin, une 4e le 7 juillet, une 5e le 4 août, une 6e le 30 août, une 7e le 1er octobre, une 8e culture le 11 octobre. Un ensemencement opéré avec la 8e culture par le Dr Mathis sur son milieu modifié[1] lui donna une 9e culture aussi abondante que les précédentes. Le Dr Mathis en est, le 5 février 1907, à sa 15e culture.

La multiplication est rapide en milieu de culture et devient apparente dès le 2e ou le 3e jour après l'ensemencement.

A l'état frais, les cultures montrent le développement des Trypanosomes sous forme d'*Herpetomonas* : ceux-ci sont de différentes tailles, très mobiles, ils traversent le champ du microscope le flagelle en avant. Chez les grosses formes fuselées, le

1. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, 8 déc. 1906, p. 550.

corps se déplace tout d'une pièce, la membrane ondulante et le flagelle seuls s'agitent. Chez les petites formes le corps entier se tord pendant la marche. Les grandes formes présentent parfois des aspects de division binaire longitudinale égale. Dans les vieilles cultures, on trouve surtout de nombreuses formes en boules, immobiles, avec un flagelle très long qui seul s'agite, parfois très faiblement.

Enfin on rencontre de nombreuses rosaces de 6 à 15 *Herpetomonas* fuselés et ayant tous leur flagelle dirigé vers le centre.

Ce qui frappe le plus dans l'aspect de ces *Herpetomonas*, ce sont les granulations assez grosses qui sont toutes contenues en général dans la moitié postérieure du corps. La membrane ondulante se voit très nettement. Les grandes formes libres mesurent de 10 à 20 μ (une fois 34 μ) (17 μ en moyenne) de longueur, sur 3 à 4 μ de largeur en moyenne (parfois 6 μ); le flagelle n'est pas mesurable à l'état frais.

Les formes rondes, de 3 à 16 μ de diamètre, sont remplies de granulations plus grosses que celles des formes fuselées.

Préparations colorées. — Les formes fuselées, qui sont les plus nombreuses dans les cultures en pleine évolution, mesurent 20 μ de longueur sur 2 à 3 μ de largeur; la portion libre de leur flagelle atteint en général la même longueur que le corps : 17 μ à 25 μ. Le noyau, d'un diamètre moyen de 3 μ à 3 μ 5, est situé tangentiellement à la ligne médiane transversale, en avant de cette ligne. Le centrosome, assez gros et toujours bien coloré, est très près de la partie antérieure du noyau et lui est même le plus souvent accolé. (Voir planche VII, fig. 11 et 12.)

Comparaison avec les autres Trypanosomes des Oiseaux.

Quelques-uns de ces Trypanosomes ne sont connus que par leurs caractères morphologiques dans le sang des Oiseaux. Leurs dimensions ne répondent pas à celles du Trypanosome de l'Hirondelle[1] :

T. Johnstoni. Dutton et Todd, 1903 : 36 à 38 μ sur 1 μ 4 à 1 μ 6.

2e *T. de Gambie.* Dutton et Todd, 1903 : 32 μ 5 sur 8 μ.

T. du Pigeon. Hanna 1903 : 45 à 60 μ sur 6 μ à 8 μ.

T. du Corbeau. Ross et Hanna : 40 à 56 μ sur 3 μ à 4 μ 8.

T. du Milan. Donovan : 34 μ sur 3 μ à 3 μ 5.

1. Thiroux. Recherches morphologiques et expérimentales sur *T. paddae* *Ann. Inst. Past.*, t. XX, fév. 1905.

T. polyplectri Vassal [1] : 46 μ sur 5 μ.

D'autre part, les caractères culturaux des Trypanosomes des Oiseaux qui ont été cultivés jusqu'ici sont différents de ceux du Trypanosome de l'Hirondelle [2] :

T. avium (Danilewsky, N. et Mac-N. *emend.*) revêt en culture des formes spirochétiennes tout à fait spéciales.

T. mesnili (N. et Mac N.), qui mesure dans le sang 50 μ sur 8 μ (dimensions doubles de celles de T. de l'Hirondelle) forme en cultures de très grandes rosaces : le corps entier des *Herpetomonas* est granuleux.

T. laverani (N. et Mac N.) a une culture à évolution très lente, le corps entier est granuleux et contient un bâtonnet terminal à l'extrémité postérieure, le centrosome est en avant du noyau.

Le type (4) de N. et Mac N. ne contient en culture que de très fines granulations ; sa longueur n'est que de 15 μ sur 3 μ de largeur.

Le type (*4a*) des mêmes auteurs ne montre en culture que très rarement des rosaces, son centrosome est très gros (1 μ à 1 μ 3) et le noyau peu volumineux (2 μ).

T. paddae (Laveran et Mesnil) montre en culture, d'après Thiroux, des rosaces où les flagelles sont dirigés vers la périphérie. Le centrosome est entre le noyau et l'extrémité antérieure.

Le Trypanosome de l'Hirondelle se caractérise surtout, dans ses cultures, par les grosses granulations n'occupant en général que la moitié postérieure du corps, le centrosome très rapproché de la partie antérieure du noyau auquel il est souvent accolé, la longueur du flagelle libre, la fréquence des rosaces constituées par un petit nombre d'éléments, et enfin la rapidité de la culture.

Ces caractères nous paraissent suffisants pour distinguer le T. de l'Hirondelle des autres T. d'Oiseaux et en faire une espèce nouvelle, pour laquelle nous proposons le nom de *Trypanosoma mathisi*, en l'honneur du Dr Mathis, qui a apporté une très pratique modification au milieu de Novy et Mac Neal pour la culture des Trypanosomes [3].

1. Vassal. Sur un nouveau Trypanosome aviaire. *C. R. Soc. Biol.*, t. LVIII, 17 juin 05, p. 1014.

2. Voir F. G. Novy et W. J. Mac-Neal : On the Trypanosomes of Birds, *Journ. of infect. diseases*, t. II, n° 2, 1er mars 1905, et Thiroux, *loc. cit.*

3. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, 8 déc. 1906, p. 550.

Inoculation.

La vie des Hirondelles en captivité étant très précaire, nous avons inoculé toute l'eau de condensation d'un tube de culture contenant de très nombreux *Herpetomonas*, le 23 juin 1906, sous la peau de deux Serins, sans aucun résultat.

EXPLICATION DES PLANCHES VI ET VII

Pl. VI. — *Lynchia maura*. Second hôte d'*Haemoproteus columbae*.

Pl. VII. — 1. — Très jeune *Haemoproteus columbae*, dans le sang du Pigeon. Expérience d'infection par un filtrat.

— 2-3-4-5. — *Haemoproteus columbae* d'âges croissants.

— 6-7. — Ookinète de l'*H. columbae*, dans l'estomac du *Lynchia maura*.

— 8. — Globule rouge normal, pour montrer les dimensions de l'ookinète.

— 9-10. *Herpetomonas* du sang du Pigeon.

Toutes les figures ci-dessus ont été dessinées à la même échelle.

— 11-12. — *Trypanosoma mathisi* de l'Hirondelle, en culture. Forme ronde et forme effilée.

ÉTUDES SUR LA

MORVE EXPÉRIMENTALE DU COBAYE

Par Maurice NICOLLE

(COMPLÉMENTS)

Les expériences que nous allons rapporter datent de différentes époques; toutefois, la majorité est postérieure à la rédaction de notre précédent travail. Depuis ce moment, l'activité du virus C a légèrement fléchi, par suite de réensemencements trop fréquents sur gélose à la pomme de terre; aussi, nous a-t-il fallu forcer les doses inoculées, lorsque nous nous proposions d'éprouver des animaux supposés immuns.

IMMUNITÉ, VIS-A-VIS DU VIRUS C, CONFÉRÉE PAR INOCULATION UNIQUE DES VIRUS M OU C

Nous en avons déjà cité quelques exemples, à propos, notamment, de la morve expérimentale des jeunes cobayes. Voici — avec la *fin des observations U, V et X* — le résumé de plusieurs *cas nouveaux*.

Il s'agit, comme on va le voir, tantôt de jeunes mâles, guéris de l'inoculation intrapéritonéale, tantôt de femelles ayant supporté, sans aucun inconvénient, le même mode d'infection; ailleurs, de sujets chez lesquels le virus, introduit sous la peau, n'a déterminé qu'une réaction négligeable ou, tout au plus, très bénigne; dans un dernier cas, enfin, du seul cobaye que nous avons vu résister à l'injection intrapleurale de 1 centigramme (virus M).

On remarquera que les animaux V, X, AD, AG, AH, ont été éprouvés avec succès (AG à deux reprises), alors qu'ils s'étaient montrés hypersensibles aux germes morts. On notera également que, sous l'influence d'une première administration de ces germes morts, pratiquée chez le sujet AE, le virus, latent, s'est « réveillé » — sans grand dommage, du reste. Et

nous ferons observer, en terminant, qu'après guérison de l'inoculation d'épreuve, les cobayes AD et AJ ont réagi constamment aux injections sous-cutanées de Mαε, jusqu'au moment où l'on a cru inutile de répéter plus longtemps ces injections.

IMMUNISATION, PAR LE VIRUS M, CONTRE LE VIRUS C.

(U. Suite.) Après 39 jours, 840 grammes (+ 50); on inocule 10^{-1} (virus C) sous la peau : abcès local, qui guérit; adénopathie axillaire bilalérale qui disparait, après avoir suppuré à droite (un témoin meurt en 37 jours).

(A. B). Un cob. mâle (230 gr.) reçoit, dans le péritoine, 10^{-1} (virus M) : à droite, forme ectopique, type régressif — à gauche, f. ectopique, type inguinal, suivie de suppuration et de guérison — très peu d'émaciation (maximum = — 30 gr.). Après 87 jours, le poids ayant atteint 540 grammes (+ 310), on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction normale. Après 22 jours, 560 (+ 20); on inocule 10^{-2} sous la peau (virus C) : abcès, qui guérit facilement; périostite du tibia droit, qui se résorbe vite; émaciation (-100), puis retour à la normale (un témoin meurt en 82 jours : abcès local, qui guérit, adénopathie inguinale correspondante, « orchite métastatique » droite, ulcérations scrotales). Après 67 jours, on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction normale.

(A. C.) Un cob. mâle (230 gr.) reçoit, dans le péritoine, 10^{-1} (virus M) : à droite, forme éphémère — à gauche, forme ectopique, type inguinal, suivie de suppuration et de guérison — périostite du pied droit, qui se résorbe vite — eschares et pustules scrotales transitoires — pas d'émaciation. Après 200 jours. le poids étant monté à 590 grammes (+ 360), on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction moyenne, pas d'émaciation. Après 31 jours, on recommence : mêmes résultats. Après 39 jours, 640 (+ 50); troisième injection de 1 centigramme Mαε : réaction normale, mais émaciation (—100). Après 21 jours, 630 (—10), on inocule 10^{-1} (virus C) sous la peau : nodule local, qui se résorbe (un témoin meurt en 22 jours : abcès local, périostites multiples, double « orchite métastatique »).

(A. D.) Un cob. femelle (670 gr.) reçoit, dans la plèvre droite, 1 centigramme (virus M) : nodule thoracique allongé, parallèle aux côtes, qui se résorbe lentement. Puis, quelques pustules sur les grandes lèvres. Emaciation moyenne (—80). Après 61 jours, le poids étant de 650 (—20), on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction violente, pas d'émaciation. Après 34 jours, 800 (+ 150); on recommence : réaction prolongée. Après 66 jours, 880 (+ 80); on inocule 10^{-2} (virus C) sous la peau (un témoin meurt en 71 jours 1/2) : abcès local, qui guérit; émaciation (—110). Après 77 jours 880 (± 0); on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction violente, émaciation (—120). Après 33 jours, 920 (+ 40); on recommence : réact. viol., émaciation (—160). Après 38 jours, 830 (—90); 3e injection de Mαε : réact. viol., émaciation (—70). Après 81 jours, 730 (—100); nouvelle injection : réact. viol., pas d'émaciation. Après 33 jours, 870 (+ 140); 5e injection de Mαε : réact. viol., pas d'émaciation. On juge inutile de continuer et l'observation est arrêtée définitivement.

IMMUNISATION, PAR LE VIRUS C, CONTRE LE VIRUS C.

(V. Suite.) Après 60 jours, 440 grammes (+ 150); on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction moyenne. Après 28 jours, 460 (+ 20); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : petit nodule, vite résorbé. Après 21 jours, 540 (+ 80); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction normale.

(X. Suite.) Après 43 jours, 410 (+ 110); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction violente. Après 38 jours, 480 (+ 70); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : petit nodule qui guérit, après avoir suppuré partiellement; pas d'émaciation (un témoin meurt en 52 jours).

(A. E.) Un cob. femelle (210 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-5} (virus C) : petit nodule suppuré, qui guérit rapidement — périostites des deux tibias et de la main droite, vite résorbées — pas d'émaciation. Après 97 jours, le poids étant monté à 370 grammes (+ 160), on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction violente, suivie d'une *énorme* ulcération qui guérit; périostite du tibia droit, rapidement terminée sans suppuration : pas d'émaciation. Après 53 jours, 530 (+ 160); on recommence : réaction normale. Après 19 jours, 520 (—10); on inocule 10^{-2} (virus C) sous la peau : *aucun effet* local, émaciation modérée (maximum — 50). Après 32 jours, 620 (+ 100); on injecte, sous la peau, 1 centigramme (virus C) : *nodule* local, *qui* s'indure, puis se ramollit et, finalement, *se résorbe* (un témoin meurt en 18 jours).

(A. F.) Un cob. femelle (230 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-5} (virus C) : petit nodule, qui se résorbe rapidement. Après 87 jours, le poids ayant atteint 420 grammes (+ 180), on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction violente. Après 34 jours, 470 (+ 30); on recommence : réaction normale. Après 16 jours, 590 (+ 120); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : nodule local, qui se résorbe : adénopathie inguinale correspondante, qui disparait peu à peu (un témoin meurt en 46 jours 1/2). Après 69 jours, 670 (+ 80) : on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction moyenne. Après 29 jours, 670 (± 0); on recommence : réaction normale.

(A. G.) Un cob. femelle (165 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-3} (virus C); nodule local, qui se résorbe. Après 64 jours, le poids étant monté à 430 grammes (+ 265), on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction violente, pas d'émaciation. Après 25 jours, on inocule, sous la peau, 10^{-2} (virus C) : nodule local, vite résorbé : peu d'émaciation (—40). Après 37 jours, 540 (+ 90) : on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction violente. Après 28 jours, 510 (—30) : on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : petit nodule, vite résorbé (un témoin meurt en 39 jours 1/2). Après 21 jours, 650 (+ 140); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction normale.

(A. H.). Un cob. femelle (540 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-3} (virus C) : petit nodule, qui se résorbe rapidement — mise bas (2 petits en bon état, qui grandissent ensuite normalement). Après 69 jours, le poids étant monté à 630 grammes (+ 90), on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction normale. Après 29 jours, 700 (+ 70); on inocule 10^{-1} (virus C) sous la peau : nodule qui se résorbe (un témoin meurt en 46 jours 1/2). Après

38 jours, 730 (+ 30); on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction moyenne. Après 17 jours, 740 (+ 10); on inocule 1 centigramme (virus C) sous la peau : petit nodule, qui suppure et guérit; pas d'émaciation (un témoin meurt en 13 jours). Après 46 jours, on injecte 1 centigramme Mαε sous la peau : réaction normale.

(A. I.). Un cob. mâle (180 gr.) reçoit, dans le péritoine, 10^{-3} (virus C) : à droite, forme ectopique, suivie de f. scrotale secondaire, avec ouverture et guérison ; à gauche, f. ectopique, type régressif — périostite du pied droit, qui se résorbe rapidement. Après 41 jours, 410 grammes (+ 230); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction modérée et augmentation de poids. Après 41 jours, 520 (+ 110); on recommence : réaction normale. Après 11 jours, 560 (+ 150); on inocule 10^{-1} (virus C) sous la peau : abcès, qui guérit sans difficulté. Après 34 jours, 570 (+ 10); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction normale. Après 26 jours, 580 (+ 10); on inocule, dans le péritoine, 10^{-2} (virus C) : *aucun effet* (un témoin meurt en 17 jours).

(A. J.). Un cobaye mâle (160 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-3} (virus C) : deux petits nodules (du volume d'un pois), qui suppurent et guérissent rapidement — adénopathie inguinale correspondante, transitoire. Après 44 jours, le poids ayant atteint 280 grammes (+ 120), on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction violente, sans émaciation. Après 31 jours, 350 (+ 70); on recommence : réaction normale. Après 28 jours, 450 (+ 100); on inocule 10^{-3} (virus C) dans le péritoine (un témoin meurt en 40 jours) : forme ectopique bilatérale; le testicule droit reprend sa mobilité, le testicule gauche demeure fixé dans l'abdomen ; pas d'émaciation. Après 65 jours, 590 (+ 140); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mαε : réaction violente et émaciation marquée. Après 126 jours, retour au poids antérieur (590) ; on recommence : réaction violente et émaciation faible. Après 33 jours, 670 (+ 80); 3e injection de Mαε : réaction violente et émaciation faible. On juge inutile de continuer et l'observation est arrêtée définivement.

INOCULATIONS INTRACARDIAQUES DE VIRUS MORVEUX

ÉTUDE DE L'ÉCHANTILLON M

Toutes nos expériences ont été faites sur des *cobayes adultes mâles*. Avec la dose 10^{-2}, on n'observe qu'une émaciation légère et transitoire. Avec 10^{-1}, *la moitié* environ *des sujets* maigrissent plus ou moins, puis reviennent à la santé. Cette guérison peut n'être qu'apparente et l'injection sous-cutanée de Mαε « fait sortir » alors le virus, cantonné principalement (sinon exclusivement) dans le squelette ; les cobayes succombent, en effet, après avoir montré des *ostéopériostites* multiples. Il va sans dire que si l'on attendait très longtemps, pour pratiquer l'épreuve par les germes morts, la guérison se révélerait sans doute

aussi complète que chez le reste des animaux, où elle se double presque toujours d'une *immunité* facile à mettre en évidence (lorsqu'on inocule, par exemple, 10^{-1} du virus C sous la peau, les cobayes traités n'offrent qu'un abcès bénin, tandis que les témoins périssent). — L'*autre moitié des sujets* contractent la *morve généralisée type;* la plupart sont enlevés en 11-147 jours (chiffres extrêmes observés), quelques-uns résistent.

ÉTUDE DE L'ÉCHANTILLON C

Cobayes mâles adultes.

Avec 10^{-4} et 10^{-3}, on n'obtient qu'un amaigrissement modéré et passager.

Avec 10^{-2}, la *majorité des animaux* ne subit qu'une perte de poids momentanée et acquiert, dans la règle, l'*état réfractaire* (l'injection sous-cutanée de 10^{-1} du virus C, par exemple, ne leur donne qu'une suppuration sans importance, alors qu'elle tue les cobayes neufs). — La *minorité des animaux* prend la *morve généralisée*, *sans lésions génitales* et guérit le plus souvent; quand la mort survient, elle n'a lieu qu'à la longue et par cachexie, tout signe morbide ayant disparu depuis des semaines. Les sujets guéris sont habituellement *immuns*. Quand on leur inocule, par exemple, 10^{-1} (virus C) dans le péritoine, voici ce que l'on observe : les testicules « frottent » et se fixent au sein du scrotum, sans réaction inflammatoire du côté des téguments; puis, la guérison survient peu à peu et les glandes mâles, mollasses et atrophiées, reprennent leur entière mobilité. Les témoins meurent, naturellement, de la façon habituelle.

Avec 10^{-1}, tous les animaux succombent à la *morve généralisée type*, en 4 1/2 à 45 jours (c. e.), d'ordinaire rapidement.

Cobayes femelles adultes.

Avec 10^{-1}, la morve généralisée est également constante, mais la moitié, environ, des sujets guérit; l'autre moitié périt en 11 1/2 à 95 jours (c. e.). La moindre gravité des inoculations intracardiaques chez la femelle ne peut être rapportée qu'à l'*absence de lésions génitales*, c'est-à-dire à la présence, dans l'organisme atteint, d'une moindre « masse infectée ».

Jeunes cobayes mâles.

Nous avons expérimenté, sur des animaux de 150 et

250 grammes, avec la dose 10^{-2}. Les *premiers* ont tous succombé à la morve généralisée; mais, dans la moitié des cas environ, celle-ci s'était compliquée de pseudo-tuberculose. Parmi les *seconds*, la moitié environ a péri de morve généralisée pure et le quart environ de pseudotuberculose associée; les derniers ont résisté à la généralisation morveuse. On ne saurait donc, d'après ces résultats, affirmer que les jeunes sujets soient plus sensibles que les adultes aux inoculations intracardiaques. Chez tous ces jeunes sujets, nous avons noté l'abondance excessive des *ostéopériostites*, avec localisation *constante* au niveau du museau; il se forme là un abcès, souvent volumineux, qui rend l'apparence de l'animal tout à fait ridicule. Ajoutons que si les lésions génitales ont constamment fait défaut, elles manquaient aussi, chez les adultes, après inoculation de 10^{-2}.

SIGNES ET LÉSIONS DE LA MORVE GÉNÉRALISÉE

Elle s'annonce, dès le 3e jour, par une *éruption pustuleuse*, qui prédomine aux oreilles, au scrotum et à la vulve, pour y devenir bientôt plus ou moins confluente. Puis, chez le mâle qui a reçu 10^{-1} des virus M ou C, on note, si la mort n'est pas trop rapide (comme cela peut arriver avec le virus C), la présence d'une *induration* uni ou bilatérale *de l'épididyme*. Cette induration peut s'étendre au testicule et la glande mâle contracte, ou non, des adhérences ultérieures avec les bourses. Dans les *cas aigus*, les animaux maigrissent très vite et ne tardent point à succomber. Dans les *cas lents*, les *poussées pustuleuses* continuent à se produire et l'on assiste alors à l'apparition d'*ostéopériostites* multiples, susceptibles d'atteindre tous les points du squelette. Ces ostéopériostites suppurent parfois, mais la résolution demeure la règle. Les cobayes, atteints de morve généralisée, guérissent complètement, avons-nous dit, dans un certain nombre de cas, alors même qu'il s'agit de mâles porteurs de lésions génitales; ailleurs, ils meurent, comme on l'a vu, soit au cours des accidents que nous venons de mentionner, soit après leur disparition (cachexie).

A l'autopsie des *cas aigus*, on observe de la congestion généralisée des viscères et de la dégénérescence graisseuse du foie. De plus, chez les mâles, l'épididyme et parfois le testicule

offrent déjà de petits abcès miliaires, superficiels et interstitiels; le *musculus testis* participe, ou non, à ces altérations. Si la mort n'est pas très précoce, le foie et surtout la rate sont semés de fines granulations. *Dans tous les cas aigus, le sang donne des cultures positives.*

Les *types lents* se traduisent *post mortem*, chez le mâle, par une transformation caséeuse ou caséopurulente plus ou moins complète de l'épididyme et, assez souvent aussi, du testicule, avec ou sans lésions du *musculus testis*. Ils peuvent également se traduire, dans les deux sexes, par des tubercules spléniques et hépatiques, lorsque les sujets ne périssent pas trop tardivement. Nous savons que les mâles, qui ont reçu 10^{-2} du virus C, n'offrent jamais de localisations génitales. Nous savons aussi que, chez certains mâles, inoculés avec 10^{-1} du virus M, les localisations génitales guérissent cliniquement; l'autopsie de ces animaux, sacrifiés après leur complet rétablissement, montre que la guérison était réellement complète.

Il est donc établi, par nos expériences, que *l'inoculation intracardiaque des virus M et C, à dose suffisante, détermine l'apparition d'une épididymite et d'une orchite vraies*, lésions que nous n'avons jamais obtenues quand nous injections le bacille morveux d'une autre façon. En effet, les « orchites métastatiques », observées à la suite de l'infection sous-cutanée (peau de l'abdomen), intramusculaire (muscles de la fesse) ou intrapleurale, ont constamment revêtu les types décrits à propos de l'infection intraabdominale.

Il faut donc admettre que ces « orchites métastatiques » devaient leur origine à une migration des germes par voie lymphatique. Nous sommes loin de vouloir contester la possibilité d'une migration par voie sanguine, mais nous répétons n'avoir jamais rencontré, ni cliniquement ni à l'autopsie, les altérations qu'un tel mode de transport devrait forcément engendrer.

Il ressort également de nos recherches que *l'inoculation intracardiaque unique de* 10^{-2} *du virus C constitue un moyen de vaccination fort efficace, le meilleur peut-être de tous ceux que nous connaissons;* malheureusement, ce procédé d'immunisation n'est pas toujours inoffensif (L'inoculation de 10^{-1} du virus M comporte encore plus de danger).

Remarque. — On se demandera, sans doute, pourquoi les animaux mâles, considérés comme réfractaires, ont été éprouvés tantôt par injection sous-cutanée, tantôt par injection intrapéritonéale (de 10^{-1} — virus C). Ce dernier mode d'infection, très-sévère, a été préféré par nous dans le groupe de cas où nous estimions que la résistance avait dû atteindre son maximum : l'événement nous a donné raison.

REMARQUES SUR LA TECHNIQUE DES INOCULATIONS INTRACARDIAQUES.

En suivant la méthode indiquée par Ch. Nicolle, pas un seul des animaux inoculés n'a succombé durant l'injection.

Par contre, il est arrivé, au début de nos recherches, qu'un peu de virus pénétrait dans le parenchyme du poumon gauche, lorsque l'on introduisait l'aiguille — ou dans la cavité du péricarde, lorsqu'on la retirait. Cet accident ne s'est d'ailleurs produit que 5 fois en tout. Nous avons été averti, cliniquement, de l'erreur commise par le développement rapide d'une dyspnée intense et les cobayes ont succombé en 2 jours 1/2 à 8 jours (c.e.). A l'autopsie, on pouvait observer, à côté des lésions caractéristiques décrites plus haut, de la splénisation du poumon gauche, avec ou sans pleurésie et péricardite concomitantes (3 fois); de la splénisation des deux poumons, avec pleurésie (1 fois); ou de la péricardite (1 fois). Il est curieux de voir que l'injection intracardiaque, mal réussie, d'une quantité donnée de germes, l'emporte d'ordinaire, comme sévérité, à la fois sur l'injection intracardiaque et sur l'injection intrathoracique de la même dose.

EXPÉRIENCES D'INFECTION PAR LES MUQUEUSES

Si l'on introduit, dans l'*estomac* de cobayes *adultes*, à jeun depuis 24 heures, des doses de virus (C) allant de 1 à 2 centigrammes, les animaux demeurent en bonne santé. Mais, éprouvés après une quinzaine, par injection sous-cutanée de $M\alpha\varepsilon$, ils présentent une réaction anormale (habituellement du type violent) et, dans la moitié des cas environ, ceux des germes qui avaient pénétré au sein de l'organisme et qui se trouvaient encore vivants prolifèrent et manifestent leur développement par des lésions variées, toujours bénignes (périostites et adénites principalement).

Si l'on introduit, dans la *bouche* de cobayes *jeunes* (150 à

250 grammes) ou *adultes*, non à jeun, 1-2 centigrammes de virus C, même absence de tout phénomène morbide. Lors de l'épreuve (15 jours après — Mαε), les adultes offrent une réaction normale ou prolongée et rien de plus — les jeunes une réaction violente, qui peut être suivie de périostites sans gravité. Ces jeunes animaux, éprouvés ensuite à deux reprises avec les germes morts, se montrent d'ordinaire encore hypersensibles la première fois, moins souvent la seconde. Les voies digestives sont donc plus perméables aux bacilles spécifiques chez les jeunes sujets que chez les adultes.

Si l'on introduit, dans chacune des *narines* de cobayes *adultes*, 1/2 centigramme de virus (M ou C), les animaux restent bien portants. Eprouvés au bout d'une quinzaine (Mαε), ils offrent une réaction anormale (constante, pour toutes nos observations), mais pas de lésions morveuses.

L'infection par les muqueuses équivaut, en somme, à l'introduction, dans l'organisme, d'un nombre restreint de germes; d'où sa bénignité; d'où, également, son inaptitude à créer l'état réfractaire (aucun des animaux, cités plus haut, n'avait acquis l'immunité vis-à-vis des microbes vivants). — Il n'est question, ici, que de l'*infection non répétée* par les muqueuses, la seule que nous ayons étudiée.

SÉRUMS NORMAUX ET INFECTION MORVEUSE

(VIRUS C — COB. ADULTES)

Tantôt, les sérums ont été mélangés au virus et le tout introduit, immédiatement, soit sous la peau, soit dans le péritoine; tantôt, l'injection (intra-abdominale) des sérums a précédé de 24 heures celle (sous-cutanée ou intra-péritonéale) des microbes. Disons, de suite, que les sérums chauffés (1/2 heure à 55°) se sont comportés, d'ordinaire, comme les sérums frais; ils leur ont même paru supérieurs lors de l'inoculation sous-cutanée des mélanges S + V.

SERUM ET VIRUS MÉLANGÉS.

Injection sous-cutanée.

Nous avons étudié les sérums de cheval, de bœuf, de cobaye, de lapin et de chien. Nos expériences peuvent se résumer de la façon suivante.

Injection 1-2 *c. c. de S* + 10^{-2} *V.* — Les animaux ont toujours résisté[1] avec les S. de cobaye et de lapin; pas toujours avec les S. de bœuf et de cheval.

Injection de 2 *c. c. de S* + 10^{-1} *V.* — Les animaux ont toujours résisté avec le S. de lapin; pas toujours avec les S. de bœuf et de cobaye; ils ont régulièrement succombé avec ceux de cheval et de chien.

Injection de 3 *c.c. de S* + 10^{-1} *V.* — Les animaux ont toujours résisté avec les S. de chien et de cobaye; pas toujours avec le S. de lapin; ils ont constamment péri avec ceux de cheval et de bœuf.

On ne saurait formuler, d'une façon satisfaisante, les résultats qui précèdent. La résistance individuelle des animaux d'une part et, d'autre part, l'intervention de maladies associées ont rendu, en effet, très difficile l'appréciation exacte de la valeur des sérums employés. Nous aurions pu, il est vrai, multiplier encore davantage nos recherches, pourtant assez nombreuses; il nous a paru que le sujet n'en valait point la peine. Contentons-nous donc de conclure que, *d'une façon générale*, le sérum de lapin se montre le plus actif de tous; que le sérum de cobaye vient après, suivi (selon les circonstances) de celui de bœuf ou de celui de chien; et que le sérum de cheval est, sans contredit, le moins bon de tous. Ajoutons que l'*ovalbumine* peut manifester une efficacité indéniable, mais nous avons fait trop peu de recherches avec elle pour pouvoir la comparer étroitement aux sérums. Mentionnons enfin que, parmi les animaux qui ont cliniquement résisté à l'injection des mélanges S + V, *les uns* n'étaient guéris qu'en apparence, au moment de l'épreuve par les microbes morts, car les germes latents n'ont pas tardé à révéler leur présence sous l'influence de ceux-ci. *Un certain nombre des autres* sujets, réellement guéris, étaient devenus immuns, comme l'a prouvé la façon dont ils ont supporté l'inoculation sous-cutanée de 1 centigramme du virus C ou l'inoculation intra-abdominale de 10^{-1} du même virus.

Injection intrapéritonéale.

Les cobayes, auxquels nous avons administré, par la voie intra-abdominale, 3 c.c. de S (cheval, bœuf, lapin) + 10^{-1} de V, ont toujours péri avant les témoins.

1. Nous appelons, « en bloc », résistance : l'absence totale d'infection; l'apparition d'un nodule transitoire, terminé par résorption; et celle d'un petit abcès, aisément curable.

SÉRUM, PUIS VIRUS.

Nous avons injecté 5 c.c. de S. dans le péritoine et, le lendemain, 10^{-1} de V soit sous la peau, soit dans l'abdomen.

Infection sous-cutanée.

Elle n'a jamais paru modifiée quant à son intensité (les expériences ont été faites presque uniquement avec le S. de lapin).

Infection intrapéritonéale.

Qu'il s'agît de cobayes mâles ou femelles, et quel que fût le S. employé (cheval, lapin, cobaye), les animaux ainsi traités ont régulièrement succombé avant les témoins.

CONCLUSIONS.

Les expériences qui viennent d'être rapportées et celles que nous avons fait connaître dans notre premier travail nous autorisent à formuler les propositions que voici. L'inoculation sous-cutanée du mélange d'un S. normal et d'une forte dose de virus très actif (10^{-1} à 10^{-2} de virus C) est souvent suivie de résistance; l'inoculation intrapéritonéale du même mélange se montre au contraire plus sévère, dans tous les cas, que celle du virus seul. — L'injection intrapéritonéale d'un S. normal, suivie de l'injection intrapéritonéale d'une faible dose de virus très actif (10^{-6} de virus C, par exemple), aboutit à la résistance dans un certain nombre de cas (cette résistance peut se voir également avec 10^{-2} de virus M, peu actif); suivie de l'inoculation intrapéritonéale d'une forte dose de virus très actif (10^{-1} de virus C), elle conduit, au contraire, à une infection plus grave que celle qu'engendre le virus seul. — Enfin, l'injection intrapéritonéale d'un S. normal, suivie de l'inoculation sous-cutanée d'une forte dose de virus très actif (10^{-1} de virus C), ne modifie en rien le cours des accidents.

Nous savons déjà que, chez le cobaye mâle, l'injection intrapéritonéale de S. de cheval favorise la production des lésions génitales, dues aux microbes morveux morts. Le cas est absolument comparable à celui où l'on opère avec de fortes doses de microbes vivants et très actifs. Ces fortes doses demeurent, il est vrai, notablement inférieures aux quantités de germes morts employés dans les expériences dont nous parlons; mais il ne faut pas oublier que les germes vivants jouissent, d'une

part, de leur toxicité maxima et ne tardent pas, d'autre part, à se multiplier *loco læso*. L'analogie est donc absolue entre les deux groupes de faits.

EXPÉRIENCES DIVERSES, AVEC LES MICROBES MORTS

INJECTIONS INTRAPÉRITONÉALES, CHEZ LES JEUNES COB. MALES

[Expériences faites avec les *bacilles chloroformés*.] Nous avons établi, précédemment, qu'il est aisé de reproduire les localisations génitales de la morve en introduisant, dans la cavité abdominale du cobaye mâle adulte, 2 à 3 centigrammes de germes tués (poids sec). Le même résultat s'obtient encore chez les sujets de 250 à 300 grammes, mais il fait régulièrement défaut chez les animaux plus jeunes. Les lésions génitales, dues aux microbes morts, ne peuvent donc être réalisées qu'à partir du 2e mois, époque où nous savons que les cobayes jeunes commencent à se comporter également, vis-à-vis des microbes vivants, comme les sujets adultes. La faible sensibilité de la « vaginale musculaire » dans le jeune âge, que nous avons jadis mise en évidence par des expériences avec le virus vivant, ressort donc, d'une façon encore plus schématique, de ce qui précède.

INJECTIONS SOUS-CUTANÉES RÉPÉTÉES (COB. ADULTES)

Il nous a paru intéressant de rapporter, brièvement, l'histoire de deux cobayes soumis, *depuis le début de juin* 1905, à des injections sous-cutanées, réitérées, de Mχε (1 centigr.) L'un de ces animaux a reçu, en tout, 11 injections (intervalles : 16-92 jours); la réaction s'est révélée normale à la suite des 5 premières, puis violente après chacune des 4 suivantes, enfin normale derechef lors des 10e et 11e; mais, comme la 11e avait déterminé une émaciation forte et prolongée, l'observation a été arrêtée définitivement, le 5 novembre 1906, au moment où le cobaye avait recouvré la santé. — L'autre sujet, encore en observation et très bien portant, a reçu 13 injections (intervalles : 10-102 jours); réaction normale après les 6 premières; puis, modérée lors des 7e et 8e; enfin, constamment moyenne par la suite.

Le premier animal s'est donc montré hypersensible, à la 6e injection, et l'est demeuré, *localement*, jusqu'à la 10e;

l'influence exercée par la 11[e] sur l'état général, prouve que le sujet avait conservé jusqu'à la fin un haut degré d'intolérance vis-à-vis de Mαε. — Le second cobaye s'est montré hypersensible, à la 7[e] injection, et l'est encore aujourd'hui ; son état général n'a jamais cessé d'être excellent.

Les deux observations qui précèdent tendraient à faire croire qu'il existe un rapport inverse entre la réaction locale et la réaction générale. Nous avons dit ailleurs, nous basant sur de nombreuses expériences, qu'un tel rapport n'offre rien de constant.

INJECTIONS INTRAVEINEUSES, INTRACARDIAQUES, INTRACÉRÉBRALES

Injections intraveineuses (cob. adultes).

[*Microbes chauffés* (humides).] 3 centigrammes déterminent une mort rapide, avec *hémopéritoine* fréquent ; 2 centigrammes tuent, en quelques jours, sans lésions spéciales ; 1 centigramme est habituellement bien supporté (émaciation transitoire).

Injections intracardiaques (cob. adultes).

[*Microbes chauffés* (humides).] 3 centigrammes tuent très vite, avec *hémopéricarde ;* 2 centigrammes amènent généralement la mort en moins de 2 heures, avec *hémopéritoine* fréquent et quelquefois *hemothorax :* 1 centigramme peut faire périr les animaux en 1 à plusieurs jours.

[*Microbes traités par l'alcool-éther* (secs).] Mêmes résultats, à dose, naturellement, 5 fois moindre.

Les injections intracardiaques sont donc incontestablement plus sévères que les injections intraveineuses, sans parler de l'hémopéricarde, qui accélère la terminaison mortelle dans le cas d'introduction de doses massives.

Injections intracérébrales (cob. adultes et jeunes).

[*Microbes traités par l'alcool-éther* (secs).] 1-2 milligrammes tuent les animaux adultes dans la nuit ; 2 milligrammes tuent les jeunes sujets en quelques heures.

INGESTION

Cantacuzène et Riegler ont observé que si l'on porte directement, dans l'estomac du cobaye, des bacilles morveux tués

par l'alcool absolu, on provoque, selon la dose administrée, soit la mort rapide ou lente des sujets, soit leur hypersensibilité vis-à-vis d'une nouvelle ingestion trop précoce. Nous avions fait antérieurement, de notre côté, les expériences qui suivent, avec des germes exposés aux vapeurs de chloroforme, germes dont la toxicité (rapportée au poids des microbes humides) se montre absolument équivalente à celle des bacilles traités par l'alcool, lors des injections sous-cutanées, intramusculaires et intrapéritonéales. Or, ces germes peuvent être introduits, *sans aucun inconvénient* immédiat ou consécutif, dans l'estomac de cobayes adultes à jeun depuis 24 heures — et cela, non seulement une fois, mais encore 2 et 3 fois au moins (à 7 jours d'intervalle) — sous la masse de 50 centigrammes (poids humide).

On peut également administrer, sans aucun danger, 4 fois de suite au moins (à 2 jours d'intervalle 50 centigrammes des mêmes bacilles (humides) chez les cobayes adultes et 25 chez les jeunes sujets (150 à 250 gr.), en déposant les microbes morts sur la base de la langue. Les animaux, éprouvés quinze jours après, par injection sous-cutanée de $M\alpha\varepsilon$, se comportent d'une façon différente suivant leur âge. Tandis que les adultes offrent les réactions normale ou prolongée, les jeunes présentent les réactions violente ou moyenne.

Que le virus morveux administré soit vivant ou non, la muqueuse digestive se montre donc plus perméable à son endroit dans le jeune âge que dans l'âge adulte.

Paris, janvier 1907.

RECHERCHES SUR
l'Infection provoquée par le spirille de la Tick-fever.

(Avec les pl. VIII et IX.)

Par MM. LEVADITI et MANOUÉLIAN

(Travail du laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.)

Dans notre mémoire concernant l'histologie pathologique de la spirillose des poules, paru dans ces *Annales*[1], nous annoncions des recherches déjà en cours se rapportant à l'étude de la septicémie que provoque chez le singe, la souris et le rat, le spirille de la *Tick-fever*. Nous apportons aujourd'hui les résultats fournis par ces recherches, en particulier ceux qui ont trait à l'histologie pathologique de cette septicémie, à la morphologie de ce spirille et au mécanisme de la crise qui marque la fin de l'infection[2].

* * *

Le *virus* dont nous nous sommes servis a été mis obligeamment à notre disposition par MM. les professeurs Koch et Wassermann de Berlin[3]; il avait été recueilli dans l'Est africain par M. Koch[4] chez des malades atteints de la fièvre récurrente, rencontrée dans ces régions par Brückner et par Werner[5]. La conservation de ce virus a été réalisée soit à l'aide des tiques qui transmettent la maladie (*Ornithodoros moubata*), soit par des passages successifs pratiqués chez la souris. La première des semences que nous avons eues à notre disposition, injectée sous la peau ou dans le péritoine des souris, des rats et des singes (*Macacus cynomolgus*), ne provoquait jamais la mort de ces animaux. L'inoculation était suivie d'une abondante pullulation des parasites dans la circulation générale, et la maladie qui, chez le singe, s'accompagnait d'une élévation de température, se terminait par une disparition critique des

1. Levaditi et Manouélian, ces *Annales*, juillet 1906, p. 593.
2. Nos principales constatations ont été déjà publiées autre part. (*C. R. de la Société de Biologie*, 8 décembre 1906.)
3. Nous prions ces messieurs de recevoir ici le témoignage de notre vive gratitude.
4. R. Koch, *Deutsche med. Woch*, 25 novembre 1905.
5. Werner, *Arch. für Schiffs-u. Tropen-Hygiene*, vol. X, 1906.

spirilles de cette circulation [1]. La crise survenait habituellement le 3e ou le 4e jour après l'inoculation du virus.

Un second virus, reçu plus tard, s'est montré sensiblement plus actif que le précédent. La souris envoyée de Berlin présentant une infection mixte provoquée par le spirille de la *Tick-fever* et par un trypanosome (espèce non déterminée), nous avons commencé par nous débarrasser de ce trypanosome, ce qui nous a été possible grâce aux précieux conseils de M. Mesnil. En injectant aux souris 1/2 c. c. par 20 grammes d'une solution à 1 0/0 d'atoxyl, nous avons fait disparaître les trypanosomes du sang, et comme malgré ce traitement, les spirilles ont persisté et ont continué à se multiplier dans la circulation générale, nous avons ainsi purifié notre virus.

En réalisant à l'aide de ce virus des passages fréquents chez la souris, nous avons constaté, au bout d'une dizaine d'inoculations, une exagération manifeste de son activité. Cette exagération s'est traduite par une prolifération plus active des parasites, par une prolongation de la durée de la maladie et, le plus souvent, par la mort des souris infectées. Si l'on a soin de se servir de petits animaux et d'inoculer dans la cavité péritonéale quelques gouttes d'un sang très riche en spirilles, on constate que les souris, dont le sang montre des parasites dès le lendemain de l'injection, succombent le 4e, le 5e et même le 6e jour : la crise est totalement absente dans ces conditions. Des expériences souvent répétées nous ont montré que l'issue mortelle de la septicémie à spirilles dépend en grande partie de la quantité du virus inoculé. Ainsi, la maladie nous a semblé être moins grave lorsque les animaux étaient infectés avec du sang pris chez des souris injectées depuis peu et dont la richesse en spirilles n'était pas trop considérable. Ajoutons que chez le rat, la septicémie spirillienne évolue plus rapidement que chez la souris, et qu'elle ne provoque jamais la mort de l'animal.

*
* *

La *méthode* dont nous nous sommes servis au cours de ces recherches est la suivante :

Les animaux, souris, rats ou singes, étaient infectés par voie sous-

1. Nos animaux étant sacrifiés sitôt la crise finie, nous n'avons pu étendre notre étude aux rechutes signalées par M. Koch (*loc. cit.*).

cutanée ou intra-péritonéale et sacrifiés à divers moments de l'infection, ainsi qu'à des intervalles variables après la disparition critique des spirilles du sang. Les organes étaient fixés par le formol (10 0/0) ou par le sublimé à alcool acétique de Gilson. Nous avons utilisé, pour la mise en évidence des spirilles sur coupes, la méthode à l'argent-pyridine que nous avons recommandée pour l'étude du *Treponema pallidum* dans les tissus syphilitiques[1]. Cette méthode est excellente si l'on désire préciser la distribution des parasites dans les divers organes ; mais, lorsqu'on veut rechercher les détails des spirilles de la *Tick-fever* inclus dans les phagocytes, on s'aperçoit de l'insuffisance des résultats qu'elle permet d'obtenir. Aussi avons-nous modifié ce procédé en traitant nos pièces de la façon suivante :

1º Des petits fragments d'organes (environ 1 millimètre d'épaisseur), préalablement fixés au formol et durcis pendant une heure à l'alcool à 95º, sont lavés à l'eau distillée, jusqu'à ce qu'ils tombent au fond du récipient ;

2º On plonge ces fragments dans une solution de *tanin* à 1 0/0 additionnée d'une quantité suffisante de pyridine pour que le mélange, d'abord trouble, devienne complètement transparent. Les pièces sont maintenues dans ce bain de tanin-pyridine pendant un quart d'heure à 50 degrés ;

3º Lavages répétés à l'eau distillée ;

4º Les fragments sont ensuite introduits dans un flacon contenant une solution de nitrate d'argent à 1 0/0, additionnée de 10 0/0 de pyridine et maintenus à 50º pendant une heure ;

5º On lave à l'eau distillée et on réduit à l'aide d'une solution d'acide pyrogallique à 4 0/0 à laquelle on ajoute une quantité suffisante de pyridine pour que le mélange devienne complètement clair. La réduction s'effectue au bout de quelques minutes déjà ;

6º Lavage à l'eau distillée, alcool, xylol, paraffine et coupes.

Coloration double au rouge neutre combiné au bleu de méthyle.

Grâce à ce procédé dont la nouveauté consiste dans le mordançage préalable des pièces au tanin, nous avons pu mettre en évidence avec une extrême aisance les spirilles inclus dans les phagocytes, et nous avons précisé certains détails morphologiques sur lesquels nous insisterons au cours de ce mémoire.

*
* *

L'examen microscopique des organes prélevés sur des animaux sacrifiés en pleine évolution de la spirillose, montre que le spirille de la *Tick-fever* a une préférence marquée pour le système vasculaire, à l'intérieur duquel il se développe activement. Ce spirille se comporte donc, à ce point de vue, comme le *Spirillum obermeyeri* et le *Spirillum gallinarum* découvert au

1. Levaditi et Manouélian, *C. R. de la Société de Biologie*, vol. XL, page 134.

Brésil par Marchoux et Salimbeni [1]. Malgré le soin particulier que nous avons mis à l'étude de nos coupes, il nous a été impossible de découvrir des rapports intimes entre le spirille de la *Tick-fever* et des éléments cellulaires autres que les phagocytes. A aucun moment de l'évolution de la maladie, ce parasite ne s'attaque aux cellules glandulaires, ne pénètre dans le protoplasma de ces cellules. Quoique l'abondance des microorganismes spirillés contenus dans le foie devient par certains moments considérable, ces microorganismes restent cantonnés dans le réseau des capillaires sanguins et ne font qu'effleurer les épithéliums hépatiques.

Le fait que le spirille de la *Tick-fever* ne pénètre pas dans le protoplasma des éléments nobles chez les animaux d'expérience est intéressant, si on le rapproche des constatations publiées par Bertarelli [2] se rapportant à la topographie du *Spirillum obermeyeri* dans les tissus des individus ayant succombé au cours de la fièvre récurrente. Ce savant, se servant de la méthode à l'argent, affirme avoir décelé dans le protoplasma de cellules spléniques et des épithélums hépatiques, des spirilles facilement reconnaissables, mais dont la forme était plus ou moins modifiée. Rappelant les constatations analogues faites par l'un de nous [3] dans le foie, les capsules surrénales, les glandes sudoripares et le poumon des nouveau-nés hérédo-syphilitiques, où l'on remarque la présence du *Treponema pallidum* dans le protoplasma cellulaire, Bertarelli insiste sur le rapprochement qu'il y aurait à faire entre le spirille de la fièvre récurrente et ce tréponème. Néanmoins, tenant compte des restrictions que nous avons formulées à propos de l'existence intra-cellulaire du microbe de la syphilis, Bertarelli se demande si le phénomène dont il est question, n'est pas une manifestation préagonique, et si l'invasion des éléments anatomiques par les spirilles d'Obermeyer n'est pas due à la faible vitalité de cellules s'acheminant vers la mort.

Nos recherches entreprises avec un spirille très rapproché, sinon identique au parasite de la récurrente, ayant été faites

1. Voir notre mémoire déjà cité.

2. Bertarelli, *Rivista d'Igiene*, vol. XVII. *Cbt. fur Bakteriologie*, vol. XLI, 1906, fasc. 4.

3. Levaditi, ces *Annales*, vol. XX, 1906, p. 4.

sur des animaux sacrifiés en pleine infection, permettent de trancher définitivement cette question. Il est hors de doute pour nous, que *le spirille de la Tick-fever est un microorganisme qui pullule exclusivement dans le torrent circulatoire et qui n'envahit à aucun moment le protoplasma cellulaire. Il ne saurait donc être question d'un stade intra-cellulaire dans l'évolution de ce spirille chez les animaux infectés.*

Si l'existence de spirilles inclus dans les cellules chez les hommes morts de fièvre récurrente est sûrement un phénomène prémortel, il n'en est pas de même de la pénétration du *Treponema pallidum* dans le protoplasma des divers éléments glandulaires. En effet, il résulte des recherches entreprises par l'un de nous (Levaditi) en collaboration avec Sauvage [1], que cette pénétration peut être mise en évidence sur des préparations fixées à un moment où les tréponèmes sont encore vivants et très mobiles, et où les cellules paraissent avoir gardé toute leur vitalité. Ainsi, chez un enfant dont on a pu prélever des fragments d'organes très peu de temps après la mort, il a été possible de déceler un grand nombre de tréponèmes dans le protoplasma des cellules du foie et de rares parasites inclus dans les ovocytes. C'est surtout la disposition des tréponèmes dans les ovules provenant de ce nouveau-né hérédo-syphilitique qui nous a convaincus du caractère vital de cette pénétration des parasites de Schaudinn et Hoffmann dans le corps cellulaire. Ainsi, si l'on examine de près les ovocytes renfermant des tréponèmes, on remarque que le plus souvent ces tréponèmes sont emprisonnés dans des vacuoles protoplasmiques, très probablement remplies de liquide. Ceci prouve que les microorganismes spirillés, après avoir envahi le protoplasma ovulaire, ont provoqué une réaction de la part de la cellule, réaction dont l'existence serait difficile à expliquer, si l'on admettait que la cellule était morte ou qu'elle s'acheminait vers la mort lors de la pénétration des tréponèmes.

D'ailleurs le *Treponema pallidum* n'est pas le seul représentant de la famille des spirilles qui soit capable de pénétrer dans le corps des cellules glandulaires. Le *Spirillum gallinarum*, qui d'après nos recherches, vit exclusivement en dehors des élé-

1. Levaditi et Sauvage, *C. R. de l'Académie des Sciences*, séance du 15 octobre 1906.

ments cellulaires chez les poules adultes et chez les poussins, s'insinue dans le protoplasma des cellules hépatiques chez les embryons de poulet infectés par inoculation du virus dans l'œuf (Levaditi [1]). Il résulte de là que l'envahissement du protoplasma des éléments cellulaires nobles par les microorganismes spirillés est un fait réel, mais qui ne se rencontre pas chez toutes les espèces de spirilles étudiées jusqu'à présent. Le phénomène doit dépendre d'une infinité de circonstances, parmi lesquelles les plus importantes nous semblent être les dimensions du parasite et sa mobilité d'une part, le degré de la résistance opposée par les cellules d'autre part [2].

L'énorme abondance de spirilles contenus dans le système vasculaire, ainsi que la facilité avec laquelle ces spirilles se laissent imprégner par l'argent, nous a permis de préciser sur coupes, le mécanisme de la division des parasites, de même que l'état où ils se trouvent dans le plasma circulant.

Pour ce qui concerne le premier point, malgré l'examen attentif de nos préparations, il nous a été impossible de découvrir des formes pouvant plaider en faveur d'une segmentation longitudinale des spirilles de la *Tick-fever*. La disposition en V rencontrée assez rarement d'ailleurs, ne saurait être considérée comme un indice de segmentation longitudinale ; elle est due au fait que deux spirilles se sont réunis par l'une de leurs extrémité, par suite de l'agglutination de leurs cils terminaux, cils dont l'existence a été mise hors de doute par les recherches entreprises par Zettnow [3] à la suite de celles de Borrel [4]. Par contre, plus d'une fois nous avons décélé dans les vaisseaux des spirilles disposés longitudinalement et réunis par un très mince filament prêt à se rompre. Cette particularité, déjà rencontrée chez le *Spirillum gallinarum*, plaide plutôt en faveur de la *division de nos spirilles par voie de segmentation transversale*. Ce qui nous le fait croire, c'est en outre de cette disposition spéciale, la nature bactérienne des spirilles de la *Tick-fever*, rendue très probable

1. Levaditi, ces *Annales*, vol. XX, novembre 1906, p. 924.

2. Nous attirons l'attention sur le fait que c'est exclusivement chez le nouveau-né et les embryons que l'on a révélé la présence intra-cellulaire des parasites spirillés. Cela doit dépendre de ce que chez les êtres incomplètement développés, les cellules sont moins résistantes que chez les adultes.

3. Zettnow, *Deutsche medic. Woch*, 8 mars 1906, p. 376.

4. Borrel, *C. R. de la Société de Biologie*, vol. LX, p. 138, 1906.

par la découverte de nombreux cils disposés le long de ces spirilles.

Pour ce qui a trait à la disposition des spirilles dans la lumière des vaisseaux, nos recherches nous ont conduits à admettre que si, dans les cas d'infection légère, ces parisites se meuvent librement dans le plasma, par contre, lorsqu'il s'agit d'animaux dont le sang est extrêmement riche en microorganismes spirillés, ceux-ci sont pour la plupart accolés les uns aux autres, pour constituer des amas plus ou moins considérables. Cette constatation nous semble intéressante. L'agglutinaton des spirilles de la septicémie des poules est un fait constant, si l'on a soin d'examiner le sang à des moments proches de la crise, et cependant l'étude histologique nous a montré que *in vivo*, la plupart des parasites circulent librement dans le plasma ou ne sont que très légèrement accolés les uns aux autres. Comme d'autre part, l'un de nous [1], en suivant longtemps sous le microscope le sort des amas qui abondent dans les préparations fraîches de sang provenant de poules atteintes de spirillose, avait constaté que ces amas disparaissaient au bout de quelques minutes et que les spirilles devenaient libres, nous avons conclu que l'agglutination du *Spirillum gallinarum* est un phénomène qui apparaît *in vitro* et seulement *in vitro*. Or, les choses ne se passent pas de la même manière avec le spirille de la *Tick-fever*. Ici, nous avons révélé un parallélisme presque absolu entre l'agglutinabilité des parasites dans les préparations fraîches et celle des spirilles contenus dans les vaisseaux (Pl. VIII, fig. 4), de sorte que, à ce point de vue, il y a lieu de faire une séparation bien marquée entre la septicémie causée par le spirille de Marchoux et Salimbeni et celle qui est provoquée par l'agent pathogène de la *Tick-fever*.

L'*étude histo-pathologique* de la septicémie spirillique des poules nous a montré que le *Spirillum gallinarum* est incapable de provoquer des lésions grossières des organes chez les animaux adultes; ce n'est que chez les embryons de poulet infectés par injection du virus dans l'œuf, que ce spirille engendre des altérations visibles à l'œil nu, en particulier des nécroses du foie [2]. Il n'en est pas de même du spirille de la *Tick-fever*, lorqu'il

1. Levaditi, ces *Annales*, mars 1904.
2. Levaditi, ces *Annales*, vol. XX, novembre 1906, p. 924.

évolue chez un animal très sensible, tel que la souris, par exemple.

En effet, injecté à des doses massives et dans la cavité péritonéale de cet animal, ce spirille est parfois capable d'engendrer des altérations hépatiques étendues, se traduisant macroscopiquement par des taches jaune grisâtre, répandues sur toute la surface du foie et, microscopiquement, par des nécroses insulaires du tissu glandulaire, riches en leucocytes polynucléaires altérés. Voici d'ailleurs les données expérimentales et microscopiques se rapportant à cette question :

Au début de nos recherches, malgré l'infection des souris par une assez grande quantité de virus, il nous a été impossible de découvrir des lésions manifestes des organes, sauf peut-être dans quelques cas, une infiltration mononucléaire disposée autour des vaisseaux hépatiques. Ce n'est que plus tard, lorsque nous avions déjà réalisé un grand nombre de passages de notre virus par l'organisme de la souris, que nous avons observé les altérations hépatiques dont il vient d'être question. Ces altérations font leur apparition le 3e ou le 4e jour après le début de l'expérience et sont loin d'être constantes. Sur un lot de 5 animaux, par exemple, inoculés au même moment avec la même dose de sang riche en spirilles, deux seulement peuvent offrir des lésions hépatiques, et cette proportion varie d'une expérience à l'autre. Somme toute, il nous a semblé que la genèse de ces lésions est sous la dépendance de la quantité de virus inoculé et que sa fréquence est proportionnelle à la durée de l'infection. En tout cas, ce n'est que chez les souris injectées dans le péritoine que nous avons vu se produire ces modifications dans la structure du foie.

Les coupes de foie, examinées à un faible grossissement (coloration au Giemsa ou au bleu de Unna (Pl. IX, fig. 1), montrent des foyers circonscrits, sans orientation précise, se détachant en clair sur le fond bien coloré du tissu. Autour de ces foyers, on remarque des vaisseaux gorgés de sang et qui sont, par place, obstrués par des thrombus leucocytaires. A un fort grossissement, on remarque que, au niveau de ces zones incolores, les éléments glandulaires sont totalement nécrosés, leur protoplasma coagulé et comme vitreux, leurs noyaux réduits à l'état de fragments. Sur des préparations imprégnées à l'argent et colorées en vert lumière et au rouge neutre. (Pl. IX, fig. 2) on retrouve la même nécrose en foyer du tissu hépatique (*n*) et en plus, on décèle une accumulation des spirilles autour des zônes nécrosées (*s*). Malgré la destruction des cellules du foie, ces spirilles ont gardé intacte leur propriété de retenir l'argent. Ils sont logés dans les capillaires qui sillonnent ces zônes nécrosées, et sont répendus parmi les nombreux leucocytes polynucléaires qui remplissent ces capillaires.

Intéressant est le fait que les vaisseaux sanguins qui sont autour et au centre des foyers nécrotiques sont très distendus et thrombosés, l'obstacle qui obstrue la lumière de ces vaisseaux étant constitué par un réseau de fibrine

emprisonnant dans ses mailles des leucocytes et de vrais paquets de spirilles. Ajoutons à cela que sur certaines coupes, les cellules hépatiques sises au voisinage immédiat des zônes nécrotiques, montrent une prolifération de leurs noyaux (amitose) aboutissant à la formation de *cellules géantes* Pl. IX, fig. 2, *cg*).

En présence de ces constatations, il y a lieu de se demander si les altérations hépatiques qui viennent d'être décrites sont dues à une action directe exercée par les spirilles de la *Tick-fever* sur les éléments glandulaires, ou bien ces altérations sont-elles secondaires et déterminées par l'obstruction de certains vaisseaux du foie? Sans nier la possibilité d'une influence nécrotisante due à l'intervention de certains produits solubles sécrétés par les spirilles, nous penchons plutôt à admettre la seconde de ces interprétations. A la suite de la thrombose provoquée par l'accumulation de paquets de spirilles et de leucocytes en certaines régions du réseau vasculaire, il se produit une destruction nécrobiotique des éléments hépatiques, cependant que les spirilles s'accumulent et prolifèrent autour de ces foyers nécrosés. Quoi qu'il en soit, il nous a semblé intéressant d'insister sur ces modifications histologiques causées par le spirille de la *Tick-fever*, modifications dont la ressemblance avec certaines lésions apparaissant au cours de la fièvre récurrente est frappante.

*
* *

La destruction, par voie de phagocytose, des spirilles de la fièvre récurrente au cours de la *crise* qui met fin à l'accès fébrile, a été mise en évidence par Metchnikoff [1], dès 1897. Malgré les travaux de Gabritchewsky [2], tendant à reléguer au second plan l'intervention des phagocytes dans l'épuration microbienne de l'organisme et à attribuer aux qualités spirillicides des humeurs le rôle principal dans le mécanisme de la destruction des spirilles, la plupart des auteurs (Bardach [3], Cantacuzène [4], Levaditi et Manouélian [5]) qui ont étudié cette question en se servant d'autres spirilles que ceux de la fièvre récurrente, se montrent partisans de la façon de voir de Metchnikoff.

1. Metchnikoff, *Virchow-s Archiv*, vol. 109, 1897.
2. Gabritchewsky, ces *Annales*, vol. X, n° 11 : vol. XI, n° 3, *Cbt für Bakteriologie* vol. XXIII, nos 9-18 ; vol, XXVI, nos 10, 16 et 17 ; vol. XXVII, n° 2.
3. Bardach, ces *Annales*, vol. XIII, 1899, p. 364.
4. Cantacuzène, ces *Annales*, vol. XIII, 1899, p. 529.
5. Levaditi, ces *Annales*, vol. XVIII, mars 1904, p. 129. Levaditi et Manouélian, *déjà cités*.

Pour ce qui concerne la *Tick-fever*, Robert Koch [1], grâce à la méthode de frottis, a révélé l'existence d'un englobement des spirilles de la part des phagocytes, dans la rate des singes infectés avec le spirille africain. Nous avons examiné de plus près cette question en nous servant du procédé à l'argent, lequel appliqué pas nous à d'autres microorganismes spirillés (*Treponema pallidum* [2], *Spirillum gallinarum* [3]), s'est montré capable de mettre facilement en évidence les spirilles inclus dans les leucocytes. D'ailleurs, une méthode basée sur le même principe et utilisée par Bertarelli [4] pour l'étude histologique de la fièvre récurrente de l'homme, a déjà donné ses preuves, en laissant voir des spirilles inclus dans le proloplasma des leucocytes de la rate.

Nos études nous ont montré que si, chez le singe (*Macacus cynomolgus*), l'englobement des spirilles au voisinage de la crise s'opère grâce à l'intervention des polynucléaires accumulés dans la rate, conformément à ce qui a été vu par Metchnikoff dans la fièvre récurrente de l'homme, par contre, chez la souris, c'est le foie qui est le siège principal de l'anéantissement phagocytaire de ces spirilles. Chez les souris sacrifiées en pleine infection ou au voisinage de la crise, la glande hépatique montre de très nombreux macrophages renfermant des microorganismes spirillés dont la forme est plus ou moins modifiée. Ces macrophages, cellules mononucléées pourvues d'un protoplasma abondant, rappellent par leur aspect et leur disposition les cellules de Kupffer. Sises à l'intérieur des capillaires du foie (Pl. VIII, fig. 1, 2, 3 et 6) et accolées à la paroi de ces capillaires, ces cellules contiennent un nombre variable de spirilles. Ceux-ci ont rarement gardé leur aspect habituel; pour la plupart du temps ils sont enroulés sur eux-mêmes [5], forment des boucles et montrent toute une série d'altérations tendant vers la destruction complète des parasites phagocytés. Ces altérations se traduisent par des irrégularités dans la disposition des tours de spire, ainsi que par l'aspect moniliforme et la fragmentation du spirille.

1. R. Koch, *déjà cité*.
2. Levaditi, ces *Annales*, vol. XX, 1906, p. 41.
3. Levaditi et Manouélian, déjà cités.
4. Bertarelli, déjà cité.
5. On trouvera plus loin des détails concernant la signification qu'il y a lieu d'attribuer à cette disposition des spirilles en boucle.

Cette phogocytase des spirilles de la *Tick-fever* débute déjà pendant l'infection et s'accentue au fur et à mesure que l'on se rapproche de la crise. Une fois cette crise effectuée, il devient impossible de déceler dans le foie des parasites libres ou inclus dans le protoplasma des cellules de Kupffer, ni même des débris spirillaires contenus dans les phagocytes. La digestion intracellulaire des spirilles s'achève donc en même temps ou très peu après la fin de la crise.

Si l'englobement des microorganismes spirillés par les mononucléaires du foie apparaît d'une façon aussi claire que possible dans nos préparations, par contre, rien, au cours de nos recherches, n'est venu consolider l'hypothèse de la dissolution des spirilles de la *Tick-fever* en dehors des cellules, sous l'influence des principes bactéricides. Étant donné que ces spirilles sont assez volumineux et que, vers la fin de l'infection, ils sont disposés en de très gros amas, il nous semble impossible qu'une dissolution de ces spirilles puisse s'effectuer, sans qu'on n'en décèle les traces à un moment donné de la maladie. Or, quel que fut le soin que nous avons mis pour dépister des modifications de forme ou de colorabilité pouvant être invoquées en faveur de l'existence d'une telle destruction extra cellulaire des parasites, nos recherches sont toujours restées infructueuses.

Tant qu'il est encore possible de découvrir dans l'intimité des organes des spirilles libres colorables par l'argent, on ne décèle que des microorganismes intacts, offrant l'habituelle régularité de leurs tours de spire et une parfaite conservation de leurs caractères morphologiques et tinctoriaux. Nulle trace de spirilles moniliformes ou d'indices de transformation granulaire.

Tous ces faits nous amènent donc à conclure que, pareillement à ce qui se passe dans les autres spirilloses déjà étudiées expérimentalement (spirillose des oies, spirillose des poules, fièvre récurrente), la destruction critique des spirilles dans la Tick-fever *est un phénomène essentiellement phagocytaire et nullement sous la dépendance de l'intervention directe des principes bactéricides.* On ne nous objectera pas que l'absence des signes visibles d'une dissolution extra-cellulaire des spirilles pourrait être due à la destruction exceptionnellement rapide de ces parasites, ou à la non-colorabilité des formes dégénérées destinées à se fondre dans le

plasma circulant. Ces objections seraient mal fondées, pour les motifs suivants :

On ne connaît pas d'exemple de destruction humorale des bactéries s'opérant d'une façon aussi rapide et aussi intense que la transformation granulaire du vibrion cholérique (phénomène de Pfeiffer). Or, même dans le cas de cette transformation en granule du vibrion de Koch, il est possible de saisir sur coupes les diverses phases que traverse le processus, si l'on a soin de sacrifier les animaux peu de temps après le début du phénomène de Pfeiffer. Ainsi, l'un de nous [1], en injectant dans les veines des cobayes activement vaccinés contre le *Vibrio Cassino*, une émulsion épaisse de vibrions, a pu retrouver, sur des coupes de poumon, des amas vibrionniens entourés de leucocytes et formés par des virgules en voie de transformation granulaire.

D'un autre côté, nos recherches nous autorisent à affirmer que lorsque les spirilles subissent des changements morphologiques, indices de leur dégénérescence avancée (aspect moniliforme, formation de granules), ils continuent néanmoins à offrir une affinité marquée pour l'argent et peuvent être facilement décelés au microscope. C'est le cas par exemple des parasites inclus dans les phagocytes et soumis à l'influence des ferments endo-cellulaires. On ne saurait donc considérer comme bien fondées les objections que nous venons de formuler il y a un instant.

Nous avons d'ailleurs enregistré, au cours de nos expériences, un fait qui plaide directement contre la dissolution humorale des spirilles de la *Tick-fever* chez les souris en train d'effectuer leur crise. Le voici :

Une souris blanche est sacrifiée 5 jours après l'inoculation intra-péritonéale du virus, à un moment où l'examen microscopique du sang ne révélait plus la présence de spirilles libres. L'étude de nombreuses coupes de foie et de rate donna un résultat négatif, en ce sens que ni les vaisseaux, ni les cellules ne contenaient des microorganismes spirillés. Pourtant, dans le poumon, au niveau d'un foyer inflammatoire et hémorragique, nous avons découvert un très grand nombre de ces microorganismes ayant conservé leur forme caractéristique et

1. Levaditi, ces *Annales*, vol. XV, 1901, p. 94.

ne montrant aucun signe de transformation granulaire ou de dissolution (Pl. VIII, fig. 7). Cette constatation prouve que la disparition des spirilles du foie, de la rate et des autres organes n'a pu être le résultat d'une action dissolvante exercée par des principes bactéricides existant à l'état de liberté dans le plasma circulant. En effet, si ces principes circulaient réellement dans ce plasma, ils devraient atteindre, au même titre que les spirilles renfermés dans le foie et la rate, les parasites logés dans le poumon, et dans ce cas ceux-ci auraient dû montrer des signes de souffrance, ce qui n'a pas été le cas dans l'expérience que nous venons de citer. Force est donc de se rallier à l'opinion que nous avons annoncée dans un de nos précédents mémoires [1], à savoir que les substances spirillicides sont, par suite du manque de cytase libre, incapables d'agir *in vivo* et que leur rôle doit se borner à faciliter et à exagérer la phagocytose des spirilles [2], laquelle représente le seul moyen efficace que l'organisme emploie pour se défendre contre les septicémies spirilliennes.

***

Nous avons observé, au cours de ces recherches, un phénomène particulier sur lequel nous désirons insister : c'est *la disposition en boucle ou en peloton des spirilles inclus dans les macrophages du foie*. Cette disposition est visible dans le foie des souris sacrifiées en pleine infection spirillienne et est représentée dans les figures 1, 2, 3 et 6 de la planche VIII. Ce n'est pas dans la *Tick-fever* que l'on a rencontré pour la première fois cet enroulement des spirilles sur eux-mêmes. Il a été déjà vu par Cantacuzène [3] sur des frottis de rate provenant d'oies inoculées avec le *Spirillum anserina* Sacharoff, frottis qui montrent des macrophages pourvus de vacuoles, à l'intérieur desquelles on distingue des spirilles disposés en peloton. L'un de nous [4], au cours de ses recherches ayant trait à la spirillose des poules (Marchoux et Salimbeni [5]), a également constaté, dans la rate des

1. Levaditi, ces *Annales*, vol. XVIII, mars 1904, page 143.

2. L'influence favorisante exercée par les anticorps spirillicides sur l'englobement des spirilles par les phagocytes, a été démontré par Sawtchenko (ces *Annales*, vol. XVI, n° 2). Elle doit être rangée dans la catégorie des phénomènes d'*organisation* sur lesquels Wrhigt et ses élèves, Neufeld et Rimpau, Löhlein, etc., ont insisté dernièrement.

3. Cantacuzène, déjà cité.

4. Levaditi, déjà cité.

5. Marchoux et Salimbeni, ces *Annales*, vol. XVII, 1903, p. 569

oiseaux infectés, une multitude de spirilles entortillés, dont la plupart étaient inclus dans de gros phagocytes mononucléaires, et cette constatation fut récemment confirmée par Manouélian et Levaditi [1] et par Prowazek [2]. Rappelons enfin que suivant le regretté Schaudinn, le *Treponema pallidum* serait capable, dans certaines conditions, de présenter la même disposition enchevêtrée.

Quelle signification faut-il accorder à cet enroulement particulier qui semble commun à la plupart des espèces de spirilles bien étudiés jusqu'à présent? Suivant Prowazek qui partage une opinion déjà formulée par Schaudinn, la disposition des microorganismes spirillés en boucle représenterait un stade de repos dans l'évolution de ces parasites, analogues à ceux qu'on a souvent rencontrés dans le cycle évolutif des protozoaires. On sait d'ailleurs que, d'après ces savants, les spirilles doivent être classés parmi les protozoaires et non parmi les bactériacées, comme le soutiennent R. Koch, Metchnikoff, Borrel et comme nous le pensons nous-mêmes.

Nos constatations nous ont amenés à des conclusions autres que celles auxquelles souscrivent Schaudinn et Prowazek. *Loin de considérer ces formes enchevêtrées comme un stade de repos dans l'évolution des spirilles, nous sommes enclins à voir dans l'enchevêtrement de ces spirilles un état de souffrance, précédant l'apparition des signes de dégénérescence et la désintégration plus ou moins complète de ces parasites.* Voici les faits que nous invoquons en faveur de notre manière de voir :

Tout d'abord il apparaît d'une façon non douteuse que l'enroulement des microorganismes spirillés s'opère le plus fréquemment à l'intérieur des phagocytes et qu'il intéresse des parasites destinés à se détruire sous l'influence des ferments endo-cellulaires. On suit d'ailleurs pas à pas la marche de cette destruction, qui débute par l'enchevêtrement des spirilles et qui finit par la transformation granulaire de ces microbes. Il est vrai que parfois nous avons décelé de ces formes enchevêtrées en dehors des phagocytes. Mais l'examen de nos coupes nous a montré que ces formes existaient précisément au niveau de foyers hémorragiques (foie de souris, fig. 8 de la planche VIII).

1. Levaditi et Manouélian, déjà cités.

2. Prowazek, *Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*, vol. XXIII, fasc. 2, 1906, page 554.

3. Levaditi, déjà cité.

c'est-à-dire dans un milieu où, par suite de la phagolyse, il s'est opéré une mise en liberté des bactériolysines leucocytaires.

Mais ce qui, d'après nous, prouve le plus la justesse de notre façon de voir est le fait suivant, rencontré au cours des recherches concernant la spirillose des embryons de poulet infectés par l'injection du virus de Marchoux et Salimbeni dans l'œuf fécondé. Si l'on examine le sort du *Spirillum gallinarum* introduit dans le blanc ou le jaune d'œuf et placé à 38°, on ne constate nulle trace de multiplication de ce spirille sur place. Les parasites s'immobilisent, deviennent moniliformes et finissent par disparaître complètement. Ils ne prolifèrent que dans le sang et les tissus de l'embryon, pour engendrer la septicémie étudiée de près par Borrel et par Levaditi, leur développement étant intimement lié à la vitalité des tissus qui les hébergent. Or, si dans ces conditions, on a soin de suivre les diverses phases de la destruction des parasites à l'endroit même où l'on a déposé le virus, on est surpris par l'abondance des formes enchevêtrées, entortillées, ce qui prouve que ces formes représentent en réalité le stade initial du processus de la désintégration spirillaire.

D'ailleurs, si ces formes indiquaient, comme le veut Prowazek, l'existence d'une phase de repos dans l'évolution des spirilles, phase qui expliquerait la conservation prolongée du virus pendant les périodes qui séparent les accès de la fièvre à rechute, on devrait continuer à les rencontrer soit libres, soit incluses dans les cellules, une fois la crise effectuée. Or, après la fin de cette crise, comme nous venons déjà de le dire, toute trace de parasites en spirales ou de spirilles entortillés disparaît dans le foie et la rate de la souris, du rat et même du singe.

⁂

Un mot encore à propos des *rapports qui existent entre les parasites de la Tick-fever et les globules rouges*. Comme on peut s'assurer en examinant les figures 1 et 2 de la planche VIII, il n'est pas rare de rencontrer, soit à l'intérieur des macrophages du foie, soit même en dehors de ces cellules, des spirilles disposés autour des hématies chez la souris, et parfois chez le singe (rate). Les phagocytes englobent donc non seulement des microorganismes spirillés libres, mais aussi des spirilles accolés

aux globules rouges, et font subir simultanément à ces éléments des modifications régressives. Le fait est intéressant et a été déjà rencontré dans la septicémie brésilienne de Marchoux et Salimbeni. Il résulte d'une communication orale de Borrel, que cet auteur a décelé, il y a déjà longtemps, le *Spirillum gallinarum* à l'intérieur des hématies de poule (*in vitro* et sur des frottis de moelle osseuse). Cette constatation, restée inédite, a été récemment confirmée par Prowazek, lequel s'est convaincu de la pénétration du spirille de Marchoux et Salimbeni dans les globules rouges. Cet auteur va même plus loin et admet que cette disposition représente un stade endo-cellulaire dans le cycle évolutif de ce spirille.

Nous ne pouvons rien affimer de précis quant à l'existence de spirilles endo-globulaires chez les poules infectées par le *Spirillum gallinarum*, n'ayant pas étudié cette question de près. Mais, pour ce qui concerne le spirille de la *Tick-fever*, il nous semble difficile d'admettre que le rapport étroit que l'on relève parfois entre ce spirille et les hématies, indique réellement la pénétration des parasites dans ces hématies. En effet, nous avons toujours constaté que les microorganismes spirillés faisaient comme une sorte de cercle autour du globule rouge et qu'ils n'offraient pas la moindre tendance à s'insinuer dans le protoplasma de ce globule. *Il ne saurait donc être question de l'existence d'un stade endo-globulaire du spirille de la* Tick-fever[1].

1. Nous avons recherché si à l'exemple du *Spirillum gallinarum*, le spirille de la *Tick-fever* envahit *l'ovule* des animaux infectés. Malgré l'examen d'un grand nombre de coupes, nous n'avons rencontré qu'une seule fois des spirilles typiques dans le follicule de Graff, chez le rat.

Décembre 1906.

LEGENDES DES PLANCHES VIII ET IX

Pl. VIII. — *Fig.* 1. — *Coupe de foie d'une souris sacrifiée vers la fin de l'infection. m*, macrophage contenant des spirilles entortillés autour des globules rouges (*g*).

Fig. 2. — *Même coupe. m*, macrophage renfermant des spirilles ondulés, des hématies et des spirilles entourant les globules rouges (g).

Fig. 3. — *Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine infection. n*, cellule hépatique; *m*, macrophage renfermant des spirilles ondulés ou entortillés (*s*).

Fig. 4. — *Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine septicemie. r.*

vaisseau hépatique; *p*, leucocyte polynucléaire; *s*, *spirilles agglutinés*. Les débris colorés en noir que l'on voit au voisinage des amas de spirilles ne sont pas des parasites dégénérés, mais des fragments de spirilles coupés obliquement.

Fig. 5. — *Coupe de rate d'une souris infectée*. *c*. cellule splénique: *m*, megacaryocyte contenant un spirille *s*.

Fig. 6. — *Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine infection*. *m*, macrophage contenant un spirille ondulé et un spirille disposé en boucle (*s*).

Fig. 7. — *Coupe de poumon d'une souris sacrifiée après la crise*. *a*, alvéoles pulmonaires contenant un grand nombre d'hématies; *s*, spirilles.

Fig. 8. — *Coupe de foie d'une souris sacrifiée vers la fin de l'infection*. *n*, cellule hépatique; *h*, foyer hémorragique; *s*, spirilles entortillés.

Pl. IX. — *Fig.* 1. — *Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine infection*. *n*, foyer de nécrose; *p*, leucocytes polynucléaires. (Coloration par l'éosine et le bleu de tolluidine.)

Fig. 2. — *Même coupe à un fort grossissement* (imprégnation à l'argent). *ch*, cellules hépatiques; *n*, zone de nécrose; *p*, débris de leucocytes polynucléaires: *cg*, cellules à noyaux multiples; *s*, spirilles.

ACTION DU VIN SUR LE BACILLE D'EBERTH

PAR MM. J. SABRAZÈS ET A. MARCANDIER (DE BORDEAUX)

La fièvre typhoïde se propage surtout, si on s'en rapporte à la doctrine classique, par l'eau de boisson, encore que la part de la contagion directe soit loin d'être négligeable. Le rôle de l'eau dans la transmission de la maladie a suscité d'innombrables recherches cliniques et expérimentales.

Parmi les questions que se pose le médecin, quand il envisage ce problème, les suivantes viennent naturellement à l'esprit : lorsque le bacille d'Eberth se trouve dans l'eau de consommation, y reste-t-il vivant et susceptible de nuire, quand on ajoute cette eau à du vin, ainsi qu'il est d'usage pendant les repas? Des vins mouillés, avant leur mise en bouteille, avec une eau bacillifère conservent-ils longtemps vivants les germes de dothienentérie?

On qualifie souvent le vin d'excellent antiseptique ayant immédiatement raison des impuretés microbiennes de l'eau. Y a-t-il quelque lueur de vérité dans cette opinion courante? En ce qui concerne le vin, on ne s'est guère préoccupé de répondre à ces questions. D'autres boissons fermentées, le cidre, la bière ont donné lieu à des travaux dans ce sens. Le vin n'a été étudié à cet égard que par Aloïs Pick. Dans une première note [1] très succincte, il indique le pouvoir bactéricide, vis-à-vis du bacille d'Eberth, des vins purs blancs et rouges; l'adjonction de parties égales d'eau exigerait un contact de 24 heures pour que le mélange vînt à bout de ces germes. Dans une seconde note [2] cet auteur précise un peu plus. Le bacille typhique résisterait plus d'une demi-heure dans des vins de table blancs et rouges, une heure dans un vin étiqueté Ssegszarder. 5-10-30 minutes dans du Mailberger, 15 minutes dans du Vöslauer. Coupés d'eau par moitié, tous ces vins, même les plus bactéricides, n'arrivaient pas à tuer le bacille d'Eberth au bout d'une demi-heure.

1. ALOIS PICK, *Ueber der Einfluss des Weines auf die Entwickelung der Typhus- und Cholera-Bacillen. Centralbl. für Bakter*, 1892 *p.* 293-294.
2. ALOIS PICK, *Ueber die Einwirkung von Wein und Bier, sowie von einigen organischen Saüren auf die Cholera-und Typhus-Bacterien. Archiv. für Hygiene* 1893, p. 51-61.

Nos premiers essais ont porté sur un vin rouge ordinaire de Carignan, provenant de la Gironde, mis en bouteille le jour même de l'examen. L'analyse donnait les résultats suivants : alcool 11°2; acidité en SO^4H^2 5,14; extrait sec 24,8; sulfate de potasse 1 gramme par litre; chlorures 0,40. Ce vin ensemencé dans du bouillon (12 décembre 1906), à raison d'une goutte par tube de 10 c. c. a fourni à 37° des cultures d'un streptobacille prenant le gram, et de rares levures. Ce même microbe a seul cultivé à 37°,24 heures après incorporation de bacille d'Eberth (deux gouttes d'un bouillon de 3 jours dans 10 c. c. de ce vin); même résultat, ce vin étant dédoublé avec de l'eau stérile.

Un vin rouge analogue au précédent (alcool 9°1, acidité 4gr,90, extrait 17, sulfate de potasse moins de 1 gramme, chlorures 1,053) est filtré à la bougie Chamberland. Le 12 décembre on prépare 8 tubes : 3 contiennent 10 c. c. de vin pur; 2 10 c.c. d'un mélange à parties égales d'eau de fontaine stérilisée et de vin; 2 autres 10 c. c. d'un mélange avec un tiers d'eau. On ajoute à chacun 2 gouttes de culture d'Eberth et on les laisse à 15°. On fait trois ensemencements successifs à une demi-heure d'intervalle chacun, en agitant préalablement les tubes. Les rétrocultures étaient encore positives au bout d'une heure et demie; mais dix heures après le début de l'expérience aucun ensemencement n'était fertile.

Le 14 décembre 1906, on prépare une série de mélanges semblables et on procède toutes les demi-heures à des transports en bouillon ; les conditions expérimentales et les résultats sont consignés dans le tableau suivant (le signe + indique les rétrocultures positives, le signe —. les négatives) :

DILUTION	GOUTTES de CULTURE	TEMPS ÉCOULÉ DEPUIS L'INTRODUCTION DU MICROBE DANS LE VIN ET TEMPÉRATURES										
		40 m. 18°	1h.1/2 19°	2 h. 19°	3 h. 18°	4 h. 17°5	5 h. 17°	6 h. 17°2	7 h. 18°	8 h. 17°2	9 h. 17°5	10 h. 17°
10 c. c. vin pur.	2	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
— dilué 1/2	2		+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
— id	5		+	+	+	+	—	+	+	+	—	—
— 2/3	5		+	+	+	+	—	+	+	+	—	—

Le bacille d'Eberth a donc vécu deux heures dans ce vin ordinaire, tel qu'il est livré à la consommation, et quatre heures dans ce vin coupé d'eau par moitié. Quand la dose de culture incorporée au vin est de cinq gouttes au lieu de deux, la survie est de près de neuf heures.

Le 16 décembre 1906, un vin blanc sec de Cérons (1890), en bouteille depuis plus de dix ans, ayant les caractères suivants : alcool 10°,7, acidité 5, extrait 22,8, sulfate de potasse plus de 1 gramme, est filtré à la bougie; on en répartit aseptiquement 10 c. c. dans des flacons qu'on additionne les uns de deux gouttes, les autres de cinq gouttes de culture d'Eberth et qu'on laisse à la température de 17°-18°. Des rétrocultures faites toutes les heures sont restées négatives. Le bacille d'Eberth est donc tué en moins d'une heure dans ce vin.

Le 17 décembre, on refait l'expérience en transportant toutes les cinq minutes une anse de platine des mélanges dans le bouillon.

Résultats : le bacille d'Eberth ne vit que vingt minutes dans ce vin de Cérons.

Le 18 décembre 1906, nous opérons, dans les mêmes conditions de température sur un vin de champagne sec, ayant plusieurs années de bouteille, provenant d'Epernay (alcool 9°,7, acidité 5,78, sulfate de potasse moins de 1 gramme), et sur un vin rouge de Bordeaux — Saint-Estèphe, cos d'Estournel 1888 (alcool 8°,5, acidité 4, 16, extrait 10,1, sulfate de potasse moins de 1 gr. chlorures 0,35), — l'un et l'autre stériles au débouchage (ensemencements en bouillon et sur gélose) et que, par suite, nous ne filtrons pas à la bougie.

On fait, dans les mêmes proportions que ci-dessus, des mélanges de vin pur et de cultures et, toutes les cinq minutes, on transporte une anse de platine des mélanges dans des tubes de bouillon. Dans le champagne, le bacille d'Eberth est tué en moins de dix minutes. Dans le bordeaux, la culture est encore positive après 30 minutes.

Dédoublons ce champagne avec de l'eau de la ville, bouillie et refroidie; le bacille d'Eberth n'y succombe dès lors qu'au bout de 1 heure 1/2.

Le vin rouge de Bordeaux (cos d'Estournel 1888), additionné de deux gouttes de culture d'Eberth par 3 c. c. et laissé 2 heures à 15° n'a pas cultivé; additionné de 5 gouttes, la tem-

pérature étant la même, il a fourni une culture positive, dans le même laps de temps, tandis que, toutes choses étant égales, sauf la température portée à 37°, le bacille a été tué.

Le 26 décembre 1906, nos expériences portent sur trois vins :

1° Un vin blanc jeune du commerce, très ordinaire mais non fraudé, originaire de Sadirac (Gironde), marqué 1903, mis en bouteille depuis 8 jours (alcool 8°,2, acidité 5,3, extrait 26,3, sulfate de potasse moins de 1 gramme, acide sulfureux libre 123 milligrammes par litre) ;

2° Un vin de grenache-Roussillon 1900 — : alcool 15° 3, acidité 4,06, sulfate de potasse moins de 1 gramme ;

3° Un vin rouge de Bourgogne (Beaune 1898) : alcool 10°5, acidité 4, 41, extrait 18,4, sulfate de potasse moins de 1 gramme.

Ces trois vins n'ont pas cultivé au débouchage (ensemencements aérobies et anaérobies dans du bouillon, négatifs).

On ajoute à ces vins 2 gouttes normales par 10 c. c. de bacille d'Eberth en bouillon datant de 3 jours.

Voici les résultats :

Le vin blanc pur de Sadirac stérilise les germes typhiques en moins de 15 minutes.

Le bourgogne et le grenache tuent le bacille d'Eberth en moins de 30 minutes.

Le vin blanc de Sadirac, de consommation courante, dilué 1/2 et à 1/3, amène encore la mort de ce germe en un quart d'heure. Par contre, ce même vin blanc pur, non dilué, mais exactement neutralisé, cultive encore au bout de 6 heures 1/2, neutralisé et dilué à 1/2, au bout de 4 jours. Une fois saturé, ce vin se conserve du reste très mal ; il se transforme en vinaigre. Par contre, à l'état pur, sa conservation est parfaite.

Telles sont les expériences réalisées par nous jusqu'à présent.

Au cours de ces recherches nous avons fait quelques remarques dignes d'être mentionnées :

5 gouttes des vins examinés, ajoutées à 10 c. c. de bouillon, n'infertilisent pas le milieu ; le bacille d'Eberth s'y développe normalement. Or toutes nos rétrocultures énumérées ci-dessus se faisaient à l'anse de platine; la gouttelette de vin ainsi introduite dans le bouillon ne pouvait en rien gêner le développement du microbe.

A 1/30 les vins employés n'agglutinent presque pas le

bacille d'Eberth qui ne tarde pas à devenir moins mobile. Après 24 heures de contact, des agglutinats de bacilles morts, reconnaissables morphologiquement, décolorés par le gram sont trouvés au fond des tubes. Les vins rouges riches en tannin, tels que le cos d'Estournel, se clarifient, pâlissent et laissent déposer, dans ces conditions, beaucoup de très fins grumeaux pulvérulents.

Quand on pratique des ensemencements en série des divers vins additionnés de bacilles d'Eberth, au fur et à mesure que le contact se prolonge, les colonies de rétroculture, dans les semis en surface sur milieux solides, vont peu à peu se raréfiant : le bacille ne se multiplie pas dans le vin, il s'y détruit progressivement.

Dans les transports successifs en bouillon, de gouttelettes de mélanges Eberth-vin, les formes filamenteuses du bacille nous ont paru augmenter de nombre.

Nous avons opéré parallèlement sur deux bacilles d'Eberth, l'un servant depuis longtemps au laboratoire pour la séro-réaction, l'autre extrait récemment d'une rate typhique : les résultats n'ont varié que dans de faibles limites.

Des passages sur milieux d'épreuve — bouillon-lactosé, pomme de terre, gélose fuchsinée, gélose de Conradi-Drigalski, etc. — nous donnaient la preuve, à chaque série d'expériences, de la pureté des cultures.

Il résulte de nos constatations que les vins conservés depuis longtemps en bouteille sont stériles quand on les sème dans du bouillon de viande et sur gélose, tandis que les vins rouges puisés quotidiennement au tonneau contiennent des bactéries et des levures qui cultivent très bien dans ces conditions.

Les vins purs exercent une puissante action bactéricide sur le bacille d'Eberth, mais cette action varie d'intensité avec la nature et la qualité des vins.

Les vins blancs se sont révélés plus actifs que les rouges. Le tableau suivant rend compte de l'échelle décroissante des propriétés bactéricides, en regard des diverses particularités analytiques que nous devons, pour la plupart, à l'obligeante collaboration de M. A. Auché, professeur de pharmacie et de chimie à l'Ecole de santé navale de Bordeaux et à celle de M. R. Dupouy, professeur de matière médicale à la Faculté :

NATURE DES VINS	Années	Alcool	Acidité en SO^4H^2	Extrait sec	SULFATE de potasse.	Chlorures	ACIDE sulfureux libre.	MORT DU BACILLE D'EBERTH
Champagne sec..	Plus.	9°,7	5,78		— de 1gr			Moins de 10 min.
Sadirac blanc....	1903	8°,2	5,3	26,3	—		0,123	— 15 —
Cérons blanc.....	1890	10°,7	5	22,8	+ de 1gr			20 minutes.
Grenache........	1892	15°,3	4,06					Moins de 30 min.
Beaune rouge....	1898	10°,5	4,45	18,4	— de 1gr			— 30 —
Cos d'Estournel r.	1888	8°,5	4,16	10,1	—	0,35		Moins de 2 heures.
Rouge carignan..	Jeune.	9°,1	4,90	17	—	1,053		— 3 —
Sadirac blanc neutralisé.........	1903	8°,2	0	26,3	—			Survie au delà de 6 heures 1/2.

L'acidité joue sans doute un rôle prépondérant. En effet, un vin neutralisé, comme le Sadirac, qui, avant la saturation tuait le bacille d'Eberth en moins d'un quart d'heure, le laisse vivant, après neutralisation, plus de 6 heures 1/2, et plusieurs jours quand on le dilue à moitié.

L'action bactéricide des acides sur le bacille d'Eberth a du reste été très bien étudiée par S. Kitasato[1]. L'acide sulfurique tue ce microbe en 4 à 5 heures, à une concentration de 0,8 0/0 ; puis viennent, classés par activité décroissante, les acides chlorhydrique (0,2 0/0), azotique (0,2), sulfurique (0,28), acétique (0,3), phénique (0,34), formique (0,356), oxalique (0,366), lactique (0,4), tartrique, citrique, malique (0,476), tannique (1,66), borique (2,7). Aloïs Pick arrive à peu près aux mêmes résultats pour les acides formique, acétique, tartrique, citrique. Parmi ces acides, plusieurs se retrouvent, à doses très variables, suivant l'ancienneté, la nature, le cru, etc., dans les vins ; tels les acides tartrique, malique, tannique, acétique, citrique à côté des acides succinique, propionique, butyrique et valérique. Ils sont en partie à l'état libre, en partie combinés, en partie éthérifiés.

Tous ces acides concourent respectivement, chacun pour une part difficile à évaluer, à rendre le vin bactéricide.

1. S. Kitasato, Ueber das Verhalten der Typhus-und Cholerabacillen zu säure oder alkalihaltigen Nährböden, *Zeitschrift für Hygiene*, 1888, drittes Bd, S. 404-426.

L'hyperacidité des vins blancs, qui figurent dans notre tableau, explique leur supériorité à cet égard. Leur teneur relativement élevée en acide sulfureux doit contribuer aussi à leur conférer un pouvoir bactéricide plus élevé. L'introduction du gaz sulfureux dans le vin, et surtout dans le vin blanc, est une véritable nécessité. Ce gaz provient des méchages successifs que subit le vin blanc pendant les trois ou quatre ans de conservation en barrique qui précèdent la mise en bouteille. « On peut affirmer que l'acide sulfureux est indispensable au développement et au maintien des qualités des vins blancs, de quelque nature qu'ils soient [1]. » En général [2] les vins de France renferment moins de 200 milligrammes d'acide sulfureux par litre; cependant quelques grands crus de Bourgogne et la plupart des vins de la région de Cérons, Freignac, Sauternes (Gironde) peuvent contenir jusqu'à 400 milligrammes. La plus grande partie de l'acide sulfureux se combine dans les vins avec les matières organiques, surtout avec les aldéhydes et les sucres; l'acide sulfureux combiné est très peu antiseptique. Une autre partie s'oxyde, forme des sulfates et enrichit le vin en sulfate de potasse qui n'est lui-même que bien faiblement microbicide. Enfin une notable quantité d'acide sulfureux reste libre dans le vin et influe considérablement sur sa conservation. Schmitt, Schaffer et Bertschinger ont montré que le « pouvoir antiseptique de l'acide sulfureux libre, pour certains organismes du vin, était au moins dix fois plus grand que celui de l'aldéhyde sulfureux [3] ». De même la nocivité pour l'homme de l'acide libre et de l'acide combiné présente des différences très tranchées : le premier est beaucoup plus toxique que le second [4].

Le taux de l'acide sulfureux libre oscille dans les vins blancs de 10 à 50 milligrammes par litre et atteint exceptionnelle-

1. J. Laborde, Les vins blancs et l'acide sulfureux. *Extrait de la Revue de viticulture* 1905.

2. P. Carles, L'acide sulfureux en œnologie et en œnotechnie avec rapport au Comité technique et réponse de la douane américaine. Éditeurs : Feret (Bordeaux), Mulo et Cie (Paris), 1905.

3. J. Laborde, *Loc. cit.*

4. M.-L. Mathieu, Rapport sur la limitation des doses d'acide sulfureux dans les vins. Minist. de l'Agricult.; office des renseignements agricoles. Extrait du *Bulletin mensuel*, juin, juillet et août 1902.

Ch. Blarez et J. Gautrelet, Action physiol. et toxique des solutions d'acide sulfureux en injections sous-cutanées; des solutions d'aldéhyde ordinaire ou éthanal; des combinaisons d'acide sulfureux et d'éthanal. *Soc. de Biologie,* tome 2e, 1905, pages 154-158.

ment 100 à 130 milligrammes. Dans le vin blanc de Sadirac, qui a servi à nos expériences, cette valeur atteignait 123 milligrammes ; c'était un vin jeune, n'ayant que quelques jours de bouteille ; dans les vins plus âgés cette valeur décroît avec le temps.

Nous pensons que les vins blancs empruntent à la présence d'acide sulfureux libre un certain appoint bactéricide, les données suivantes de P. Miquel[1] plaident dans ce sens : les solutions aqueuses d'acide sulfureux à 1/1500 s'opposent à la multiplication du bacille d'Eberth et le tuent à 1/1000.

Ajoutons qu'aux concentrations les plus élevées d'acide sulfureux libre signalés ci-dessus, les vins blancs sont inoffensifs, comme l'ont démontré les expériences classiques de Leuch, surtout les vins de luxe, comme les Sauternes, dont on ne boit que de minimes quantités à la fois.

Le degré alcoolique (8° à 15° dans nos échantillons) n'influe guère sur le pouvoir bactéricide. A 25° l'alcool éthylique épargne, pendant 24 heures, des microbes tels que le colibacille et le staphylocoque doré[2] d'une sensibilité aux antiseptiques très voisine de celle du bacille d'Eberth. D'autres substances renforcent sans doute les propriétés microbicides du vin — glycérine, éthers, alcool amylique, aldéhydes très oxygénées constituant, d'après Berthelot, la véritable essence du bouquet[3], etc. ; mais nous ne possédons aucune certitude à cet égard.

La dilution atténue considérablement l'action antiseptique du vin ; c'est ainsi qu'un vin rouge ordinaire, additionné d'eau à 1/2 ou à 2/3, n'est plus actif qu'au bout de 4 heures au lieu de 2 ; le champagne dédoublé, au bout d'une heure 1/2 au lieu de 10 minutes. Toutefois nous avons vu un vin blanc de table très acide et riche en acide sulfureux libre (Sadirac 1903) supporter des dilutions à 1/2 et à 1/3 sans perdre ses capacités germicides qui se manifestaient en 15 minutes.

La quantité des germes introduits dans la boisson influe considérablement sur le temps de stérilisation : un vin rouge commun souillé de deux gouttes de culture en triomphe

1. P. Miquel. De la désinfection des poussières sèches des appartements. Action de l'acide sulfureux sur les bouillons de peptones ensemencés avec les bacilles du charbon, d'Eberth et le spirille de Koch, *Annales de micrographie* 1894, pages 329-330.

2. Rafael Minecoini. *Ueber die baktericide Wirkung des Alkohols. Zeitschrift für Hygiène und Infections krankheiten, Bd* 29, *S.* 117-148.

3. A. Gautier. L'alimentation et les régimes, Paris 1904, page 269.

dans un laps de temps de deux heures ; mais cinq gouttes exigent neuf heures ; il est vrai que dans ce dernier cas il faut tenir compte de modifications de l'acidité et de la dilution imprimées au vin par l'apport d'un bouillon qui peut ne pas être rigoureusement neutre.

La température a aussi son importance : à 37° le vin vieux de Saint-Estèphe est plus antiseptique qu'à 15°.

Ainsi, laissé en bouteille, le vin se débarrasse au bout de quelque temps, des germes que pouvait contenir l'eau ayant servi à le mouiller ; parmi ces germes le bacille d'Eberth est très vulnérable ; dans un laps de temps assez court, au contact des vins purs, il est stérilisé.

Le vin additionné par moitié, au moment du repas, d'une eau bacillifère et ingéré séance tenante, perdra beaucoup de son pouvoir bactéricide, en supposant même que ce pouvoir continue à s'exercer le long du tube digestif, d'où la possibilité d'une contamination éberthienne dans ces conditions.

En faisant le mélange à parties égales d'eau suspecte et de vin, six heures avant le repas pour le vin blanc, douze heures avant sa consommation pour le rouge, tout danger pourra être écarté ; ce serait même là, à défaut d'ébullition, de filtre et de tout autre agent purificateur, un moyen de corriger les souillures d'une eau.

Cette pratique de la dilution *ante cibum* depuis longtemps en vigueur dans les collectivités — « l'abondance » des pensionnats — se trouve donc pleinement justifiée.

Les propriétés bactéricides des vins conservés en bouteille seraient susceptibles d'être utilisées, à défaut d'autre antiseptique, par les chirurgiens ou les accoucheurs dans des cas pressants.

ERRATA

1° Mémoire J. Cantacuzène et P. Riegler, mars 1907.

Pl. III. Au	lieu de	2	lire 1 bis.
—	—	4	— 2
—	—	5	— 3
—	—	1 bis	— 4
—	—	3	— 5

2° Mémoire Tizzoni et Bongiovanni (même numéro, page 237, ligne 9, au lieu de : les rayons X, lire les rayons α).

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux, — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE MAI 1907 N° 5

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LES TRYPANOSOMIASES DU HAUT-NIGER

PAR M. A. LAVERAN

MEMBRE DE L'INSTITUT ET DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

En 1903, M. Cazalbou, vétérinaire militaire, adressait à l'Académie de médecine une *Note sur un trypanosome du Soudan français*. Dans ce travail, M. Cazalbou appelait l'attention sur une maladie enzootique des dromadaires, appelée Mbori ou maladie de la mouche par les Maures et les Arabes de la région de Tombouctou.

L'auteur donnait les principaux caractères de la maladie et démontrait qu'il s'agissait d'une trypanosomiase[1].

En 1904, M. Cazalbou adressait à l'Académie de médecine deux nouvelles notes ayant pour titres : 1° *Mbori expérimen ta* 2° *Note sur la Soumaya*[2].

Dans la première de ces notes, M. Cazalbou complétait l'étude de la Mbori en donnant les résultats des inoculations faites à différents animaux (rats, souris, chien, chat, mouton, chèvre, cheval) avec le virus provenant des dromadaires de Tombouctou.

La deuxième note était consacrée à la description d'une trypanosomiase connue chez les Bambaras sous le nom de Soumaya ou Souma. Cette épizootie paraît avoir commencé en 1903 sur les bœufs à bosse (zébus) du Macina, arrivés malades à Ségou; sur 4694 Bovidés, il y eut 676 morts.

En 1904, M. Cazalbou signalait, en dehors de la Mbori et de

1. A. LAVERAN, Rapport sur la note de M. Cazalbou, *Académie de médecine*, 30 juin 1903.
2. A. LAVERAN, *Rapport à l'Académie de médecine*, 26 avril 1904.

la Souma, des trypanosomiases observées par lui sur des chevaux provenant de la région du Bani (affluent du Niger) et sur des Bovidés du cercle de Koury (Haute-Volta)[1].

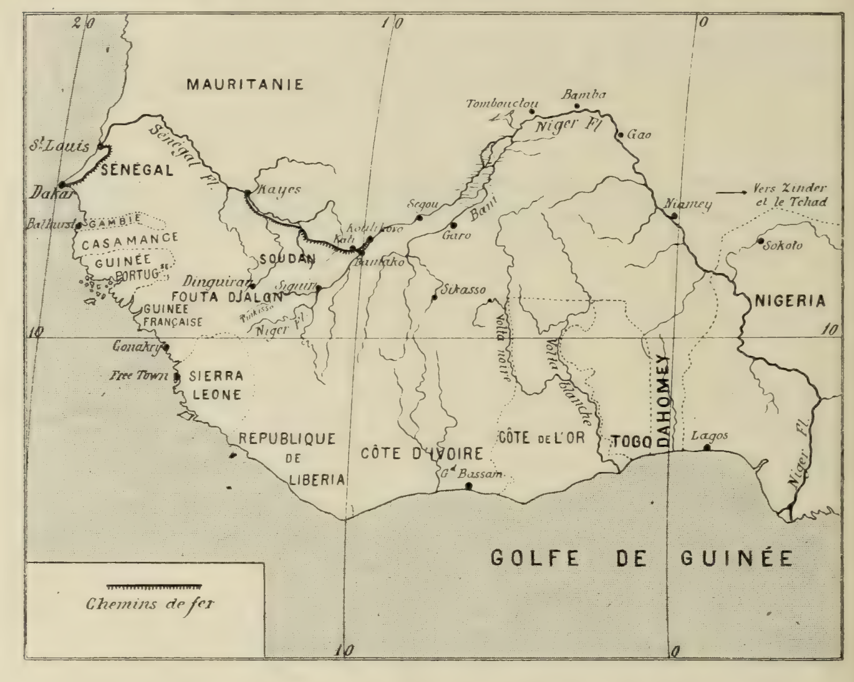


FIG. I. — Carte des bassins du Sénégal, du Niger et de la Volta.

Malgré l'étude excellente faite par M. Cazalbou, de la Mbori, il était difficile de conclure. S'agissait-il d'une trypanosomiase nouvelle ou d'une variété d'une maladie déjà connue? Ni la clinique ni l'étude morphologique du trypanosome ne permettaient de trancher cette question. Le problème de la nature des autres trypanosomiases du Soudan français était encore plus obscur que celui de la Mbori.

M. Cazalbou m'adressa, au commencement de 1904, un chien soudanais qui avait été inoculé à Ségou avec le virus provenant d'un dromadaire de Tombouctou infecté de Mbori, ce qui me permit d'étudier le trypanosome de cette épizootie et de démontrer par des expériences poursuivies soit à l'Institut

1. L. CAZALBOU, Les trypanosomiases au Soudan français, *Rec. de méd. vétér.*, 15 octobre 1904.

Pasteur, soit à l'École d'Alfort avec la collaboration de MM. Vallée et Panisset, que la Mbori était une variété du Surra, variété un peu moins virulente que le Surra de l'île Maurice[1].

En 1905, M. Cazalbou résume dans une note adressée à la Société de Biologie[2] les résultats d'une mission au Macina. Les chevaux des bords du marigot de Diaka sont, dit-il, presque tous atteints de la maladie qui est connue dans cette région sous le nom de Soumaya. Les bœufs à bosse (zébus), qui constituent la majeure partie des troupeaux, sont atteints du même mal dans la proportion d'un bon tiers.

M. Cazalbou signale, en 1905, l'existence de *Tr. dimorphon* chez des chevaux observés par lui à Ségou, mais qui paraissent s'être infectés au cours d'un voyage en Guinée[3]. Cette dernière note de M. Cazalbou est trop succincte pour qu'il soit possible d'affirmer qu'il s'agissait bien de la trypanosomiase des chevaux de Gambie, d'autant qu'il existe au Soudan français, comme on le verra plus loin, une trypanosomiase qui, au point de vue de la morphologie des trypanosomes, présente une grande ressemblance avec la trypanosomiase de Gambie.

En 1906, M. Pécaud, qui se trouvait alors à Kati, signalait l'existence d'une épizootie de Souma dans la région de Bammako et de Kati. Comme dans l'épizootie observée à Ségou par M. Cazalbou, les troupeaux infectés provenaient du Macina[4].

Le fait que, dans le Haut-Niger, l'impôt se paie d'ordinaire en nature, et que les troupeaux d'impôt affluent de tous côtés vers les agglomérations (Ségou, Bammako-Kati), favorise la dissémination des trypanosomiases[5] et augmente les difficultés du

1. Vallée et Panisset, Sur les rapports du Surra et de la Mbori, et A. Laveran, Observations au sujet de cette note, *Acad. des Sciences*, 11 novembre 1904. — A. Laveran, Sur l'identité du Surra et de la Mbori, *Acad. des Sciences*, 26 décembre 1905.

2. L. Cazalbou, Le Macina, foyer permanent de trypanosomiase, *Soc. de Biologie*, 1er avril 1905.

3. L. Cazalbou, Sur l'existence de *Tr. dimorphon* en Guinée française, *Soc. de Biologie*, 4 mars 1905.

4. Pécaud, La Soumaya, trypanosomiase du Moyen-Niger, *Soc. de Biologie*, 13 janvier 1906.

5. « Il est désirable, écrit M. Pierre, que l'impôt en nature disparaisse aussitôt que les circonstances économiques le permettront, car il est une des causes les plus puissantes qui détruisent le bétail de la colonie. » C. Pierre, *L'élevage dans l'Afrique occidentale française*, Paris, 1906, p. 242.

diagnostic de la nature des épizooties qui règnent annuellement sur les Bovidés et les Équidés dans ces régions. MM. Cazalbou et Pécaud se sont donc trouvés aux prises avec un problème des plus difficiles et il n'y a pas lieu de s'étonner s'ils n'ont pas réussi à le résoudre complètement.

Au mois d'avril 1906, M. Cazalbou rentrait en France; il ramenait des animaux (chiens, moutons) inoculés à Ségou sur des Équidés, des Bovidés ou des Camélidés atteints de trypanosomiases; c'est sur l'étude des trypanosomes trouvés chez plusieurs de ces animaux qu'est basé le présent travail.

Chez un mouton inoculé à Ségou, sur un cheval provenant de la région du Bani, j'ai trouvé un trypanosome qui me paraît être celui de la Souma; je l'ai décrit sous le nom de *Tr. Cazalboui* n. sp.[1].

Chez un autre mouton inoculé à Ségou, sur une ânesse, j'ai trouvé un trypanosome que j'ai cru pouvoir d'abord rapporter à *Tr. dimorphon*; une étude approfondie du parasite m'a montré qu'il s'agissait vraisemblablement d'une espèce nouvelle que j'ai décrite sous le nom de *Tr. Pecaudi* n. sp.[2].

Enfin chez un chien inoculé à Ségou, sur un dromadaire, j'ai trouvé un trypanosome qui m'a paru d'abord se rapporter à *Tr. Evansi*, mais qui en réalité se rapproche davantage du trypanosome de El Debab et du Mal de la Zousfana. Je donnerai à ce dernier trypanosome le nom de *Tr. soudanense*.

En 1906, M. Cazalbou a publié sur le Surra et sur la Souma deux articles très intéressants[3] que j'aurai souvent l'occasion de citer dans la suite de ce travail.

En somme, les trypanosomiases animales qui règnent dans le Haut-Niger sont au nombre de 4 au moins.

1° Mbori, variété du Surra;

2° Souma, dont l'agent est *Tr. Cazalboui*;

3° Baleri, dont l'agent est *Tr. Pecaudi*;

4° Une trypanosomiase dont l'agent est *Tr. soudanense*.

On observe probablement aussi des infections dues à *Tr.*

1. A. Laveran, Trypanosomiases du Haut-Niger; un nouveau trypanosome pathogène, *Acad. des Sciences*, 9 juillet 1906.

2. A. Laveran, Nouvelle contrib. à l'étude des trypanosomiases du Haut-Niger, *Acad. des Sciences*, 4 février 1907.

3. L. Cazalbou, La Souma, *Revue gén. de méd. vétérinaire*, 1er et 15 septembre 1906. — Du même, Le Surra en Afrique, même recueil, 15 octobre 1906.

dimorphon, infections qui existent dans des régions voisines.

La trypanosomiase humaine est rare ; les régions à tsétsé sont d'ailleurs assez limitées, comme on le verra plus loin. Sur les bords du Bani, où l'existence des *Glossina palpalis* a été constatée, la trypanosomiase humaine est rare, mais il y a, d'après Cazalbou, un foyer endémique de cette maladie dans la région voisine de Koutiala[1].

Je ne m'arrêterai pas à l'étude de la Mbori, j'aurais peu de chose à ajouter aux travaux déjà publiés sur cette trypanosomiase, simple variété du Surra.

I

Souma.

Agent pathogène : *Trypanosoma Cazalboui*.

Le principal foyer de la Souma est le Macina, c'est-à-dire la région de la vallée inondée du Niger située entre les 14e et 16e degrés de latitude N. C'est de là que le bétail transporte la maladie dans les régions voisines ; les troupeaux d'impôt contribuent, pour une large part, à ce transport[2].

A Bammako, Pécaud a observé la Souma sur des troupeaux provenant du Macina[3] ; la maladie peut d'ailleurs être propagée en dehors de son foyer principal[4].

Le Dr G. Martin a observé la Souma dans la Guinée française et le Dr Bouet à la Côte d'Ivoire sur des Bovidés provenant de la région du Bani[5].

Cette épizootie atteint principalement les Équidés (chevaux, mulets, ânes) et les Bovidés. Les petits ruminants : chèvres, moutons, antilopes, s'infectent facilement, mais, contrairement à ce qui arrive pour la plupart des trypanosomiases voisines, le chien, le singe, le lapin, le cobaye, le rat et la souris sont réfrac-

1. L. Cazalbou, *Acad. des Sciences*, 17 septembre 1906.
2. L. Cazalbou, *op. cit.*, *Rev. gén. de méd. vétér.*, septembre 1906.
3. Pécaud, *op. cit.*, *Soc. de Biologie*, 13 janvier 1906.
4. G. Bouffard, Sur l'étiologie de la Souma trypanosomiase du Soudan français, *Soc. de Biologie*, 19 janvier 1907.
5. G. Martin. *Les trypanosomiases de la Guinée française*, Paris, 1906. — Bouet, travail inédit. — G. Memmo, F. Martoglio et C. Anani ont signalé l'existence chez les animaux domestiques, en Erythrée, d'une trypanosomiase à laquelle les cobayes, les lapins, les chiens et les singes semblent réfractaires. Peut-être s'agit-il de la Souma. (*Annali d'Igiene sperim.*, 1905, t. XV, p. 25.)

taires, ce qui constitue un des principaux caractères de *Tr. Cazalboui*.

« Chez plusieurs chiens d'âges différents, de fortes doses de sang d'animaux infectés de Souma, injectées sous la peau ou dans la veine, n'ont produit, écrit Pécaud, qu'un peu d'amaigrissement[1]. » Le sang des chiens n'a montré de trypanosomes à aucun moment et n'est pas devenu infectant pour le mouton.

J'ai inoculé, sans résultat, les animaux qui suivent sur des moutons ou sur des chèvres infectés de Souma : 1 *Macacus rhesus*, 2 chiens, 10 cobayes, 6 rats, 9 souris. A Alfort, 1 chien et 3 cobayes ont été inoculés, sans résultat, sur une vache infectée de Souma.

Symptômes chez les Bovidés, les Équidés, les Ovinés et les Caprins. — Chez les Bovidés, le début de la maladie est d'ordinaire insidieux. Vers le 2e mois, on constate de l'amaigrissement, des poussées fébriles, du larmoiement intermittent. Chez le zébu, il existe souvent de l'œdème à la partie inférieure du fanon et au niveau de la paroi inférieure du thorax ; ce symptôme est rare chez les Bovidés appartenant à d'autres races.

L'amaigrissement et l'anémie se prononcent de plus en plus. Les animaux qui ont de la fièvre hectique et souvent de la diarrhée s'affaiblissent, leur allure devient lente et traînante.

L'examen histologique du sang permet rarement de constater l'existence des trypanosomes. Chez une vache inoculée à Alfort, la présence des trypanosomes a été notée cependant à plusieurs reprises au moment des poussées fébriles.

Chez le zébu, la maladie dure de 7 à 8 mois ; la durée est plus longue chez les Bovidés africains appartenant aux races sans bosse.

Cazalbou estime à 40 0/0 la mortalité due à la Souma dans les troupeaux d'impôt; d'après Pécaud, la mortalité sur les Bovidés serait de 20 0/0 environ.

Chez le cheval, la maladie est caractérisée, au début surtout, par des poussées fébriles. Vers le deuxième mois, l'amaigrissement est sensible. Larmoiement, pétéchies sur les conjonctives. On note souvent du relâchement et de l'engorgement

1. Pécaud, *op. cit.*, *Soc. de Biologie*, 13 janvier 1906.

des enveloppes testiculaires, des œdèmes du fourreau et de la partie inférieure des membres. On observe parfois des éruptions cutanées ressemblant à de l'urticaire (Pécaud).

L'anémie va en augmentant, les muqueuses se décolorent ; à la dernière période, la parésie de l'arrière-main est de règle. L'incoordination des mouvements domine dans certains cas.

La maladie se termine presque toujours par la mort. D'après Pécaud, la durée moyenne de la Souma chez le cheval serait de 50 jours. Cazalbou a vu la maladie se prolonger pendant 6 mois et même pendant une année.

Chez le mulet, la maladie affecte une forme plus lente que chez le cheval et elle se termine parfois par guérison (Pécaud).

La chèvre et le mouton s'infectent facilement, l'incubation a une durée de 10 à 15 jours.

Les principaux symptômes chez ces animaux, sont : la fièvre, l'amaigrissement, l'anémie, l'affaiblissement, la kérato-conjonctivite.

La fièvre se manifeste par des poussées qui durent 8 à 10 jours ou même davantage. Une seule fois la température de 41°,3 a été atteinte (Obs. II) ; le plus souvent, la température s'élève peu au-dessus de 40°. Chez deux chèvres, la mort est survenue en hyperthermie, chez la troisième (Obs. IV) elle a été précédée d'une chute rapide de la température qui de 40°,5 est tombée en 5 jours à 34°,2.

L'amaigrissement est le symptôme le plus constant ; il est parfois très prononcé; le poids d'une des chèvres mortes de Souma est tombé de 42 à 30 kilogrammes; celui d'une autre chèvre, de 21 à 15 kilogrammes.

L'anémie est, en général, très prononcée à la période terminale de la maladie, les muqueuses sont décolorées ; je n'ai jamais noté d'œdèmes.

Chez 3 chèvres sur 3 inoculées par moi, les observations font mention de kérato-conjonctivites précoces qui, sans traitement, se sont terminées par guérison, bien que ces trois animaux aient succombé à la trypanosomiase.

A la dernière période, on observe un affaiblissement qui est marqué surtout dans le train postérieur; les animaux marchent en écartant les membres postérieurs qui fléchissent sous le

poids du corps ; ils tombent enfin sur un côté et ne tardent pas à succomber.

L'examen histologique du sang révèle assez souvent l'existence de trypanosomes rares ou même non rares. La multiplication des trypanosomes semble se faire par poussées, tous les quinze jours environ ; dans l'intervalle de ces poussées, l'examen histologique du sang est le plus souvent négatif.

A l'autopsie, on ne trouve pas d'œdèmes, pas d'épanchements dans les séreuses. Les organes sont anémiés. La rate est peu hypertrophiée. Les ganglions lymphatiques sont souvent augmentés de volume.

Les trois chèvres inoculées par moi ont succombé; la durée de la maladie a été respectivement de 58, 45 et 96 jours. Une chèvre inoculée à l'école vétérinaire d'Alfort, sur une vache, (Obs. VII) paraît guérie.

Le bélier inoculé à Ségou et ramené en France est mort en 62 jours. Deux moutons inoculés, les 20 août et 15 octobre 1906, sont encore vivants au bout de 238 et de 182 jours. L'un de ces moutons est en très bon état, très vigoureux et depuis 2 mois 1/2 on n'a pas vu de trypanosomes dans son sang ; il paraît en bonne voie de guérison ; l'autre est anémié et l'existence des trypanosomes a été constatée récemment encore.

Je résume les observations des moutons, des chèvres et d'une vache inoculés de Souma. La vache a été inoculée à l'école vétérinaire d'Alfort, dans le service de M. le professeur Vallée. Je remercie MM. Vallée et Rennes de leur précieuse collaboration.

Observation I. — Un bélier est inoculé le 20 mars 1906 à Ségou avec le sang d'un cheval qui s'est infecté au mois de juillet 1905 dans la région du Bani. M. Cazalbou a constaté, à plusieurs reprises, l'existence de trypanosomes chez ce cheval. Un mouton inoculé à Ségou sur le cheval est mort le 29e jour après l'inoculation, un autre mouton inoculé sur le premier a succombé 13 jours après l'inoculation.

Le bélier ramené en France, au mois d'avril 1906, par M. Cazalbou arrive le 3 mai à l'Institut Pasteur.

L'examen du sang du bélier fait le 4 mai est négatif. Le 9 mai, on inocule deux cobayes et deux souris; les cobayes reçoivent chacun, dans le péritoine, 3 c. c. du sang du bélier ; les souris reçoivent chacune 0 c. c., 25 du même sang. Ces animaux ne se sont pas infectés à la date du 8 juillet.

Le 17 mai, l'examen du sang du bélier révèle l'existence de trypanosomes

rares. J'inocule un chien qui reçoit, dans le péritoine, 5 c. c. du sang du bélier, et une chèvre qui a acquis l'immunité pour le Surra de Maurice et le Surra de Nha-Trang (voir *infra*). A la date du 8 juillet, le chien ne s'est pas infecté.

19 mai. Le bélier est très malade, couché sur le flanc.

20 mai. Le bélier s'affaiblit de plus en plus. Amaigrissement, anémie. J'inocule deux rats qui, à la date du 8 juillet, ne se sont pas infectés.

Le bélier est trouvé mort le 21 mai. Il pèse 11 kilogrammes.

Autopsie. — Les poumons sont hépatisés à la partie antérieure; il y a de petits foyers de suppuration. La pneumonie a dû contribuer beaucoup à amener la mort. Un peu de sérosité dans le péricarde, taches laiteuses sur le péricarde viscéral. La rate pèse 30 gr. Pas d'œdèmes. Les ganglions cervicaux et inguinaux sont notablement augmentés de volume.

Observation II. — Une chèvre, qui a acquis une immunité solide pour le Surra de Maurice et pour le Surra de Nha-Trang[1], est inoculée, le 17 mai 1906, sur le bélier venant de Ségou ; on injecte sous la peau du cou 5 c. c. du sang du bélier.

1er et 4 juin. L'examen histologique du sang de la chèvre est négatif.

9 juin. La chèvre est malade, elle mange peu et maigrit. Le poids qui était de 42kg,500 le 31 mai, est tombé le 9 juin à 38kg,300. La température se maintient entre 39°,2 et 39°,8 (voir le tracé n° 1 ; température normale : 39°). Kérato-conjonctivite double avec pannus. L'examen du sang révèle l'existence de trypanosomes rares.

10 juin. On inocule sur la chèvre : un chien (10 c. c. de sang dans le péritoine), deux cobayes (3 c. c. de sang à chaque cobaye dans le péritoine), deux rats (1 c. c. de sang à chaque rat). A la date du 8 juillet, aucun de ces animaux ne s'est infecté.

12 et 15 juin. Trypanosomes rares dans le sang de la chèvre.

19 juin. Poussée fébrile. Le 17, la température est montée à 41°,3; le 18, à 41°,1; le 19, elle monte à 40°,7. L'amaigrissement continue; poids : 36 kilogrammes.

Du 20 au 25 juin, la fièvre persiste, la température se maintient entre 40°,2 et 41°, 1. La chèvre est très maigre et très faible, la tête tremble et les pattes de derrière fléchissent pendant la marche. Bien que l'état général se soit aggravé, les yeux sont dans un état beaucoup meilleur, les kératites ont disparu presque complètement. Trypanosomes non rares dans le sang.

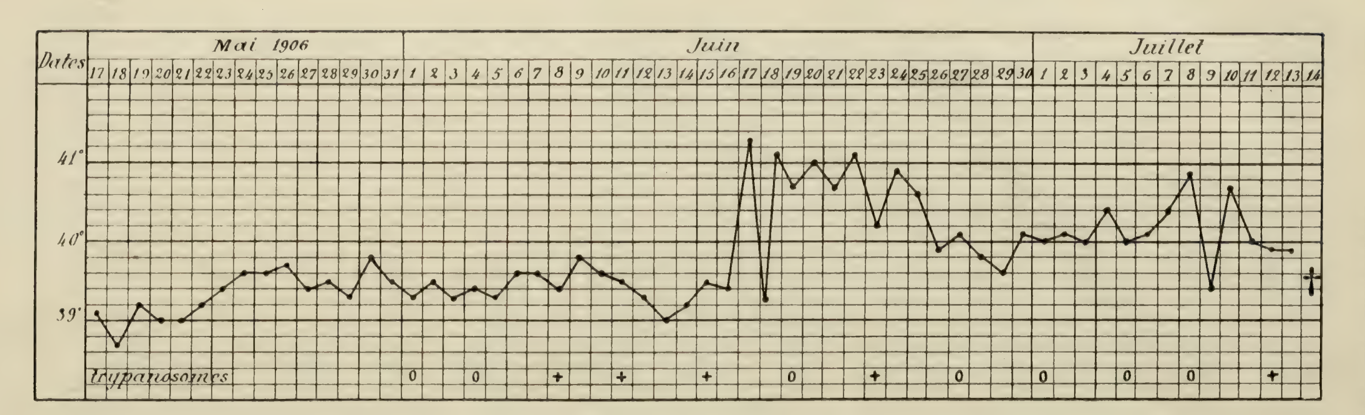
27 juin. Un peu de mieux, fièvre moins vive, la température se maintient entre 39°,6 et 40°,1.

Les examens du sang faits les 27 juin, 1er et 5 juillet sont négatifs. Le 2 juillet, la chèvre pèse 36 kg,500.

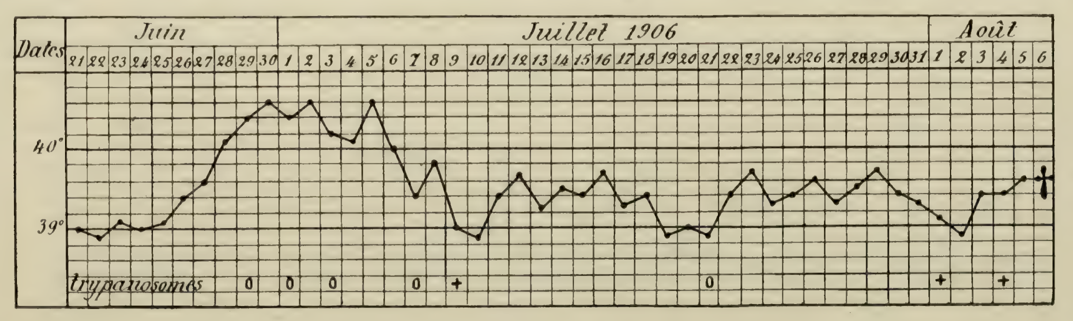
5 et 8 juillet. Pas de trypanosomes à l'examen du sang. La température se maintient aux environs de 40°. Le 8, elle monte à 40°,8.

12 juillet. La chèvre est très amaigrie. Poids : 30 kg. Faiblesse générale. La chèvre vacille sur ses pattes quand on la force à se lever et à marcher.

1. Laveran et Mesnil, *Acad. des Sciences*, 25 juin 1906, chèvre S de cette Note.



Tracé n° 1. — Chèvre, ayant l'immunité pour le Surra, inoculée de Souma le 17 mai 1906, morte le 14 juillet 1906.



Tracé n° 2. — Chèvre inoculée de Souma le 21 juin 1906, morte le 6 août.

Anémie très marquée, muqueuses décolorées; trypanosomes très rares à l'examen du sang; température : 39°,6.

13 juillet. La chèvre est couchée sur le flanc et ne peut plus se relever. Température : 39°,8. La chèvre meurt le 14 juillet.

Autopsie. — Elle est faite le 14 juillet. Pas d'œdèmes. Les ganglions lymphatiques ne sont pas hypertrophiés.

Pas de sérosité dans le péritoine. La rate pèse 195 grammes. Les reins sont très pâles.

Un peu de sérosité jaunâtre dans le péricarde. Cœur et poumons sains.

Observation III. — Chèvre achetée sur le marché de Paris. Le 21 juin 1906, on injecte sous la peau du cou 5 c. c. du sang de la chèvre II.

Du 21 au 25 juin, la température de la chèvre est normale. A partir du 26 juin, la température s'élève ; elle atteint 40°,4 le 29 et 40°, 6 le 30 (voir le tracé n° 2).

Le 29 juin, on constate l'existence d'une kérato-conjonctivite double avec pannus. L'examen du sang ne révèle pas la présence de trypanosomes.

6 juillet. La température se maintient entre 40° et 40°,6. La chèvre maigrit. Le 29 juin, elle pesait 30kg,500; le 6 juillet, elle pèse 29 kilogrammes. La kérato-conjonctivite double s'est aggravée. Les examens du sang faits les 1er, 3 et 5 juillet sont négatifs; le 9 juillet, je note des trypanosomes rares.

9 juillet. On inocule, sur la chèvre, les animaux qui suivent : un chien (10 c. c. de sang dans le péritoine); 2 cobayes (3 c.c. de sang à chaque dans le péritoine); 4 souris [1]. Aucun de ces animaux qui ont été suivis pendant plus de deux mois ne s'est infecté.

12 juillet. La chèvre maigrit. Poids : 28 kilogrammes.

19 juillet. Depuis le 9 juillet, la température se maintient entre 39° et 39°,7. La chèvre s'affaiblit, elle marche en écartant les pattes de derrière. Les kérato-conjonctivites ont disparu presque complètement.

1er août. L'amaigrissement fait des progrès; poids : 26 kg, 800. Depuis le 19 juillet, la température s'est maintenue entre 39 et 39°,7. L'examen du sang fait le 1er août révèle des trypanosomes très rares.

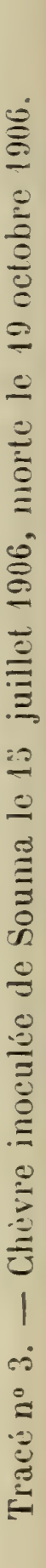
4 août. Anémie très marquée, muqueuses décolorées. Faiblesse générale, apparente surtout pendant la marche. Les pattes postérieures sont maintenues écartées et elles vacillent. Température 39°,4. Les yeux sont en bon état. L'examen du sang révèle l'existence de rares trypanosomes.

5 août. Température : 39°,6. La chèvre s'affaiblit rapidement.

La chèvre est trouvée morte le 6 août au matin, la chaleur est très forte et le cadavre a subi, au moment de l'autopsie, un commencement de putréfaction. On ne note rien d'anormal en dehors des altérations dues à la putréfaction.

Observation IV. — Une chèvre achetée à Paris reçoit le 15 juillet 1906,

1. Toutes les souris d'épreuve dont il est question dans ce travail ont été inoculées, dans le péritoine, avec 0 c. c. 25 de sang.



Tracé n° 3. — Chèvre inoculée de Souma le 15 juillet 1906, morte le 19 octobre 1906.

sous la peau du cou, 10 c. c. du sang de la chèvre qui fait l'objet de l'observation III.

Du 15 au 19, la température se maintient entre 38°,4 et 38°,9. Le poids de la chèvre est de 21 kilogrammes.

Le 20 juillet, on note une légère élévation de la température (39°,4). Du 24 au 30 juillet, poussée fébrile bien marquée; la température monte à 40° et 40°,2 (voir le tracé n° 3).

L'examen du sang fait le 25 juillet révèle l'existence de trypanosomes rares. On note ce même jour une conjonctivite double. Les yeux étaient sains avant l'inoculation.

31 juillet. La conjonctivite s'est compliquée de kératite à gauche.

1er août. La chèvre maigrit; poids : 19 kilogrammes. Des examens du sang faits les 28 juillet et 1er août sont négatifs. Du 1er au 3 août, la température de la chèvre se maintient aux environs de 40°. A partir de ce moment, la température s'abaisse un peu; pendant tout le mois d'août et pendant les premiers jours de septembre, elle se maintient aux environs de 39°,5.

4 août. Trypanosomes non rares dans le sang de la chèvre. 2 cobayes sont inoculés, ils reçoivent chacun, dans le péritoine, 3 c. c. du sang de la chèvre. L'un des cobayes meurt rapidement par accident, l'autre ne s'était pas infecté à la date du 20 septembre.

16 août. Faiblesse générale marquée surtout dans les extrémités postérieures que la chèvre écarte pendant la marche. Anémie, muqueuses décolorées. Les kérato-conjonctivites ont disparu. Examen du sang négatif. Poids : 19 kilogrammes.

3 septembre. La chèvre va un peu mieux, la faiblesse est moins grande. Yeux normaux. Examen du sang négatif.

Du 6 au 9 septembre, poussée fébrile; le 9, la température s'élève à 40°,5. La chèvre s'affaiblit de nouveau, elle mange peu et maigrit. Poids le 10 septembre : 17 kilogrammes.

Du 10 septembre au 11 octobre, la température se maintient entre 39°3, et 39°,8.

Le 10 septembre, trypanosomes rares à l'examen du sang. 15 septembre, poids : 16 kg,500.

Des examens du sang faits les 20 et 26 septembre et 1er octobre sont négatifs.

6 octobre. La chèvre s'affaiblit; elle est le plus souvent couchée. Anémie profonde, sang pâle. Trypanosomes non rares. Poids : 15 kg,500.

14 octobre. Poussée fébrile, la température monte à 40°, 5; les jours suivants, la température s'abaisse rapidement (voir le tracé n° 3).

17 octobre. Trypanosomes non rares.

18 octobre. La chèvre, couchée sur le flanc, ne peut plus se relever Hypothermie : 38°,3 le matin, 37°,2 le soir.

19 octobre. Trypanosomes non rares. Hypothermie très marquée : 35°,6 le matin, 34°,2 le soir.

La chèvre meurt le 19 au soir.

Autopsie. — Elle est faite le 20 octobre au matin. La chèvre pèse 15kg,500. Pas d'œdèmes. Les ganglions inguinaux sont augmentés de volume.

Tous les tissus et les viscères sont profondément anémiés. Pas d'épanchements dans les séreuses.

La rate pèse 70 grammes.

Poumons, cœur, rien d'anormal.

Observation V. — Le 20 août 1906, on injecte à un mouton, sous la peau du cou, 10 c. c. du sang de la chèvre qui fait l'objet de l'observation IV. Le poids du mouton est de 30 kilogrammes.

Le 28 août, le mouton a une légère poussée fébrile. La température qui, du 20 au 27 août, s'était maintenue à 39°, s'élève le 28 à 39°,5 et le 29 à 39°7; du 30 août au 28 septembre, la température s'élève souvent à 39°,5; elle atteint une fois 39°8; c'est le maximum observé.

Le 3 septembre, l'examen du sang du mouton révèle l'existence de trypanosomes rares. Les 6 et 10 septembre, les examens du sang sont négatifs.

Le 7 septembre, un cobaye et deux rats sont inoculés sur le mouton. Le cobaye reçoit 3 c. c. de sang, et les rats 1 c. c. de sang chacun. Ces animaux ne s'infectent pas.

Le 15 septembre, le mouton pèse 30 kilogrammes.

Des examens du sang faits les 15 et 20 septembre révèlent l'existence de trypanosomes rares. Les examens faits les 26 septembre et 1er octobre sont négatifs.

Le 1er octobre, le mouton pèse 28kg,500.

6 octobre. Trypanosomes rares dans le sang du mouton. Des examens du sang faits les 17, 21 et 28 octobre sont négatifs.

Le 3 novembre, le mouton pèse 26 kilos, il a donc sensiblement maigri. Pas d'autres symptômes. La température se maintient aux environs de 39°,2. Yeux normaux.

Le 5 novembre, l'examen du sang révèle l'existence de trypanosomes rares. Les examens faits les 10, 14, 21, 25 novembre, 1er et 6 décembre sont négatifs.

Le 15 novembre, le mouton pèse 24kg,500 et le 1er décembre 23 kilogrammes. Anémie marquée, muqueuses décolorées.

11 décembre. Trypanosomes non rares dans le sang du mouton. Les examens faits les 15, 19 et 22 décembre sont négatifs.

Le 15 décembre, le mouton pèse 23 kilogrammes et le 31 décembre 22 kilogrammes.

26 décembre. Trypanosomes non rares. Les examens du sang faits le 31 décembre 1906 et le 5 janvier 1907 sont négatifs.

9 janvier 1907. Trypanosomes rares. Les examens faits les 15, 21 et 26 janvier sont négatifs.

Le 15 janvier, le mouton pèse 19 kilos et le 1er février 18kg,200.

1er février. Trypanosomes non rares; le 7 février, l'examen du sang est négatif; le 12, je note de nouveau l'existence de trypanosomes non rares.

Le poids du mouton remonte brusquement, il est de 28 kilogrammes le 17 février, et de 30 kilogrammes le 4 mars.

Les examens du sang faits les 17 et 24 février, 3, 8, 14, 16 et 18 mars

sont négatifs. Le 23 mars, trypanosomes très rares. Les examens faits les 3, 8 et 12 avril sont négatifs.

Le 2 avril, le mouton pèse 30 kilogrammes, et le 15, 32 kilogrammes.

Observation VI. — Un bélier qui a été inoculé le 5 mars 1906 à Ségou, sur un taureau dont l'infection par les trypanosomes était douteuse, est ramené en France par M. Cazalbou. Il pèse, le 31 mai, 22 kilogrammes. Aucun signe d'infection, l'examen du sang est négatif. L'animal augmente rapidement de poids. Le 5 septembre, il pèse 36 kilogrammes.

Le 4 septembre, on injecte à un chien, dans le péritoine, 20 c. c. du sang du bélier. Le chien ne s'est pas infecté le 15 octobre.

15 octobre. Le bélier pèse 40 kilogrammes; je lui inocule, sous la peau d'une oreille, 5 c. c. du sang de la chèvre qui fait l'objet de l'observation IV.

25 et 30 octobre. L'examen du sang du bélier est négatif.

5 novembre. L'examen du sang révèle l'existence de trypanosomes non rares. On inocule 2 cobayes (chacun d'eux reçoit 5 c. c. de sang dans le péritoine) et 3 souris. Aucun de ces animaux ne s'est infecté.

10 novembre. Trypanosomes très rares dans le sang du bélier.

Les 14, 21 et 25 novembre, les examens du sang sont négatifs. Le 15 novembre, le bélier pèse 39 kilogrammes.

1er et 6 décembre, trypanosomes très rares.

11 et 15 décembre, examens du sang négatifs. Le 16 décembre, le bélier pèse 39 kilogrammes.

19 décembre, trypanosomes rares.

22, 26 et 31 décembre, examens du sang négatifs. Le 31 décembre, le bélier pèse 39 kilogrammes.

5 janvier 1907. Examen du sang négatif. Aucun signe morbide. Il n'y a même pas d'amaigrissement sensible. Rien aux yeux.

9 janvier. Trypanosomes rares.

Les 21 et 26 janvier et 1er février, les examens du sang sont négatifs. Le 1er février, le bélier pèse 40 kilogrammes.

7 février. Trypanosomes rares.

Le 8 février, j'inocule à un singe (*Macacus rhesus*) 5 c. c. du sang du bélier. Le poids du singe est de 2kg,480. A la date du 25 mars, le singe ne s'est pas infecté. Il va très bien; poids, 2kg,570.

Les 17 et 24 février, 3, 8 et 14 mars, les examens du sang sont négatifs.

Le 4 mars, le bélier pèse 43 kilogrammes et le 18 mars, 44 kilogrammes.

Le 15 mars, un examen du sang (après centrifugation) est négatif.

Des examens du sang faits les 18, 23, 27 mars et 3, 8, 12, 17 avril sont négatifs.

Observation VII. — Le 26 juillet 1906, M. Vallée inocule à une vache bretonne 20 c. c. du sang de la chèvre qui fait l'objet de l'observation IV; le sang a été mélangé à de l'eau physiologique citratée; il est injecté sous la peau.

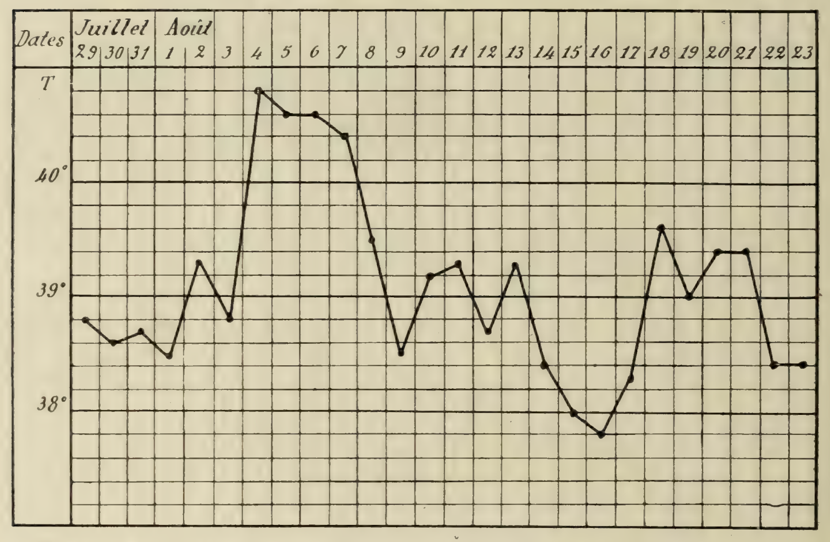
Le 4 août, la vache a une poussée fébrile qui dure quatre jours; la tem-

pérature atteint 40°,8 (voir le tracé n° 4). Pendant cette poussée fébrile, les trypanosomes sont notés comme non rares dans le sang de la vache.

Du 18 au 21 août, la vache a une nouvelle poussée moins forte que la première. Le 18 août, les trypanosomes sont non rares; on inocule avec le sang de la vache : une chèvre, un chien et trois cobayes.

A partir du 10 octobre, la température de la vache est normale; l'examen du sang fait à plusieurs reprises est toujours négatif.

La chèvre inoculée le 18 août sur la vache (10 c. c. de sang sous la peau) a eu, le 27 août, une poussée fébrile (40°7) et l'examen du sang, fait à ce



Tracé n° 4. — Vache bretonne inoculée de Souma le 26 juillet 1906.

moment, a permis de constater l'existence de nombreux trypanosomes. Jusqu'à la fin d'octobre, on a constaté de petites poussées fébriles avec multiplication des trypanosomes dans le sang au moment de ces poussées.

Depuis le 1er novembre 1906, la température est normale et on ne trouve plus de trypanosomes dans le sang (note remise le 14 avril 1907 par M. Vallée).

Le chien qui avait reçu le 18 août 10 c. c.. du sang de la vache sous la peau et 10 c. c. dans le péritoine ne s'est pas infecté.

Les 3 cobayes inoculés le 18 août 1906, chacun avec 4 c. c. de sang dans le péritoine, sont encore vivants à la date du 14 avril 1907, et n'ont jamais rien présenté d'anormal.

Agent pathogène. — J'ai décrit le trypanosome de la Souma, comme une espèce nouvelle, sous le nom de *Tr. Cazalbou*[1].

1. A. Laveran, *Acad. des Sciences*, 9 juillet 1906.

Tr. Cazalboui présente la structure typique des Flagellés du genre *Trypanosoma*; sa longueur (flagelle compris) est de 21μ, sa largeur de 1μ,5. Le noyau est ovalaire, situé vers la partie moyenne. Le centrosome, arrondi, bien visible, est situé très près de l'extrémité postérieure qui est arrondie, non effilée. Dans le protoplasme on distingue, sur les préparations colorées, de fines granulations. La membrane ondulante est très peu développée et peu plissée comme chez *Tr. Lewisi;* elle est bordée par le flagelle qui a une portion libre. La division, qui se fait par bipartition, commence d'ordinaire par le centrosome.

La figure II représente différents aspects de *Tr. Cazalboui* dans un frottis de sang de chèvre, desséché et coloré.



Fig. II. — *Tr. Cazalboui*. 1, 2, 3, formes ordinaires du trypanosome; l'extrémité postérieure est plus ou moins arrondie. — 4, un trypanosome en voie de bipartition. Gr. 1800 D. environ.

Dans le sang frais, le trypanosome a des mouvements très vifs; il se meut tantôt sur place, tantôt en flèche et, dans ce cas, il sort rapidement du champ du microscope.

Au point de vue morphologique, *Tr. Cazalboui* se distingue bien de *Tr. Evansi;* il est plus petit que ce dernier, sa membrane ondulante est moins développée, enfin son extrémité postérieure est rarement effilée comme chez *Tr. Evansi*.

L'expérience faite sur la chèvre qui est l'objet de l'observation II montre bien que le trypanosome de la Souma ne

peut pas être considéré comme une variété du trypanosome de la Mbori. La chèvre qui avait une immunité solide pour le Surra de Maurice et, par conséquent, pour la Mbori, a eu une infection mortelle à la suite de l'inoculation du virus de la Souma.

On verra plus loin que *Tr. Pecaudi* se distingue nettement de *Tr. Cazalboui* par ses caractères morphologiques.

Le fait que le singe, le chien, le cobaye, le rat et la souris se montrent réfractaires à *Tr. Cazalboui* permet d'ailleurs de distinguer facilement ce trypanosome des espèces qui s'en rapprochent au point de vue morphologique, mais qui sont pathogènes pour ces animaux.

II

BALERI

Agent pathogène : *Tr. Pecaudi.*

J'ai décrit, sous le nom de *Tr. Pecaudi*, un trypanosome que j'ai trouvé dans le sang d'un mouton inoculé sur une ânesse infectée de trypanosomiase à Garo [1]. Ce trypanosome avait été vu déjà par MM. Cazalbou et Pécaud mais l'interprétation des faits était restée douteuse.

Dans un travail publié en 1904, Cazalbou note que, chez un cheval infecté dans la région du Bani, il a trouvé deux sortes de trypanosomes, dont l'une plus courte et plus large que l'autre ; Cazalbou pense qu'il s'agit d'une infection double .

Dans plusieurs lettres datées de Kati, 1906, M. Pécaud me parle d'infections des Équidés, de la région de la Volta, caractérisées par l'existence, dans le sang, d'un long trypanosome avec un flagelle libre, et d'un autre trypanosome court et large. Ces deux formes sont très visibles dans des préparations que M. Pécaud a bien voulu m'envoyer de Kati. Pécaud incline à croire qu'il s'agit d'une infection double, mais il constate qu'il n'a jamais réussi à séparer les deux trypanosomes.

A. Balfour paraît avoir observé cette trypanosomiase au Soudan anglo-égyptien [3].

1. A. Laveran. *Acad. des Sciences*, 4 février 1907.
2. L. Cazalbou, *Rec. de méd. vétér.*, 15 octobre 1904.
3. A. Balfour, *Second report of the Wellcome research laboratories*, 1906.

D'après les renseignements oraux qui m'ont été fournis par M. le Dr Thiroux, il est probable que la trypanosomiase due à *Tr. Pecaudi* s'observe à Nianing (Sénégal) [1].

Dans une lettre datée du 20 février 1907, M. Cazalbou m'écrit au sujet de *Tr. Pecaudi* que je venais de décrire : « Il s'agit sans conteste du trypanosome qui provoque la maladie appelée Baleri par les indigènes de la Haute-Volta » ; j'emploierai donc le nom de Baleri pour désigner cette trypanosomiase.

En dehors des Équidés et des Bovidés, chez lesquels l'infection naturelle par *Tr. Pecaudi* est commune, dans certaines régions du Soudan, la plupart des Mammifères sont sensibles à ce virus.

Symptômes chez les Équidés, les Bovidés, les Ovinés et les Caprins. — Nous sommes incomplètement renseignés sur la symptomatologie du Baleri chez les Équidés et les Bovidés. L'infection, latente au début, paraît se traduire surtout, à une période avancée, par l'amaigrissement et la perte des forces.

Chez la chèvre et chez le mouton, l'infection est en général légère. Sur 2 chèvres et 2 moutons dont on trouvera les observations ci-dessous, la maladie s'est terminée trois fois par guérison. Je n'ai observé, chez ces animaux, ni poussées fébriles bien marquées, ni œdèmes, ni ophtalmies. Le seul symptôme a été l'amaigrissement qui était très marqué chez la chèvre dont l'infection a été mortelle. Cette chèvre a succombé en 48 jours après avoir présenté des mouvements convulsifs. (Obs. I) ; l'autre chèvre (Obs. IV) paraît guérie au bout de 5 mois.

Des 2 moutons, l'un a guéri au bout de 4 à 5 mois (Obs. III) ; l'autre est guéri ou en bonne voie de guérison au bout de 7 mois (Obs. II).

Chez ces animaux, l'existence des trypanosomes n'a jamais pu être constatée directement dans le sang, ce qui montre que les parasites y sont toujours en très petit nombre, contrairement à ce qui arrive dans l'infection produite par *Tr. Cazalboui*.

1. MM. Thiroux et Teppaz dans leur travail sur les Trypanosomiases au Sénégal (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 25 mars 1907) ont identifié la trypanosomiase de Nianing à la maladie des chevaux de Gambie due à *Tr. dimorphon* ; on verra plus loin que *Tr. Pecaudi* se rapproche beaucoup en effet de *Tr. dimorphon*.

Observation I. — Une chèvre neuve est inoculée le 25 mai 1906 avec *Tr. Pecaudi*. A cet effet on injecte sous la peau, à la base d'une des oreilles, du sang d'une souris fortement infectée de *Tr. Pecaudi*, mélangé à de l'eau physiologique citratée.

Le 31 mai, la chèvre pèse 28 kilogrammes.

L'examen histologique du sang de la chèvre fait à plusieurs reprises pendant les mois de juin et de juillet est toujours négatif.

Le 9 juin, on inocule 4 souris, qui s'infectent en 5 à 7 jours et meurent en 10, 17, 18 et 23 jours.

Le 19 juin, la chèvre pèse 25 kilogrammes, elle a donc maigri. On n'observe pas d'autres symptômes morbides. Les yeux sont à l'état sain.

Le 10 juillet, on inocule 3 souris qui s'infectent en 6, 8 et 10 jours et meurent en 18, 28 et 34 jours.

Le 12 juillet, le garçon de service me signale que la chèvre a eu des espèces d'attaques avec mouvements convulsifs.

La chèvre est trouvée morte le 13 juillet.

Autopsie. — Elle est faite le 13 juillet. La chèvre pèse 23kg,500.

Pas d'œdèmes sous-cutanés. Un peu de sérosité citrine dans le péritoine et dans le péricarde.

La rate pèse 70 grammes; le parenchyme est ramolli.

Les ganglions lymphatiques sont augmentés de volume surtout aux aines.

Reins congestionnés.

Poumons congestionnés. Cœur normal.

Le crâne n'a pas été ouvert.

Observation II. — Un mouton qui a été inoculé à Ségou au mois de mars 1906 sur un cheval, mais qui ne s'est pas infecté, est en très bon état le 1er septembre 1906. L'examen du sang a toujours été négatif; aucun des animaux (souris, rat, chien, cobaye) inoculés sur le mouton ne s'est infecté. Le mouton a augmenté de poids; il pèse actuellement 39 kilogrammes; il ne pesait à l'arrivée que 27 kilogrammes.

Le 3 septembre 1906, le mouton est inoculé avec *Tr. Pecaudi*. A cet effet j'injecte sous la peau, à la base d'une des oreilles, du sang d'un cobaye fortement infecté de *Tr. Pecaudi*, mélangé à un peu d'eau physiologique citratée.

18 septembre. L'examen du sang du mouton est négatif. On inocule 2 rats (1 c. c. de sang à chaque). Les rats s'infectent en 4 jours et meurent en 12 et 13 jours.

1er octobre. Le mouton pèse 37 kilogrammes; il a donc un peu maigri: on ne constate aucun autre symptôme morbide.

18 octobre. On inocule 3 souris qui s'infectent en 5 et 7 jours et meurent en 15 et 24 jours.

Le 3 novembre, le mouton pèse 40 kilogrammes. Aucun symptôme morbide.

Le 18 novembre, on inocule 2 souris qui s'infectent en 8 jours et meurent toutes deux en 13 jours.

1er décembre. Le mouton pèse 38kg,500.

Le 18 décembre, on inocule 3 souris qui ne s'infectent pas.

Le 7 janvier 1907, un chien reçoit, dans le péritoine, 25 c. c. du sang du mouton. Le chien s'infecte en 24 jours et meurt en 32 jours.

Le 15 janvier, le mouton pèse 37kg,500.

Le 7 février, un chien reçoit, dans le péritoine, 30 c. c. du sang du mouton, il s'infecte en 15 jours.

Le 17 février, le mouton pèse 45 kilogrammes, et le 4 mars 44 kilogrammes.

Le 9 mars, un chien reçoit, dans le péritoine, 30 c. c. du sang du mouton ; il ne s'est pas infecté à la date du 19 avril.

Action pathogène sur différents animaux. — Trois chiens sont morts en 14, 16 et 32 jours. Deux de ces chiens avaient des trypanosomes nombreux dans le sang au moment de la mort; chez le troisième, les parasites étaient rares. Le poids de la rate était fortement augmenté, surtout chez le chien qui a vécu le plus longtemps.

1er chien, mort en 14 jours. Poids du corps : 4kg,950; poids de la rate : 20 grammes.

2e chien, mort en 16 jours. Poids du corps : 12kg,500; poids de la rate : 60 grammes.

3e chien, mort en 32 jours. Poids du corps : 8kg,500; poids de la rate : 100 grammes.

Chez ce dernier, il y avait, au moment de la mort, de l'œdème de la paroi abdominale et des épanchements de sérosité dans le péricarde et dans les plèvres. Les reins étaient congestionnés.

Chez les cobayes, au nombre de 25, la durée moyenne de la maladie a été de 40 jours. Minimums : 18 et 23 jours. Maximums : 97 et 91 jours.

Chez 18 cobayes, du poids moyen de 342 grammes, le poids moyen de la rate a été de 1gr,50. Maximums : 5 grammes et 3 grammes.

Chez les rats, au nombre de 6, la durée moyenne de la maladie a été de 19 jours. Minimum : 12 jours. Maximum : 39 jours.

Pour un poids moyen du corps de 118 grammes, le poids moyen de la rate a été de 2gr,58. Maximums : 6 grammes chez un rat de 275 grammes et 3 grammes chez un rat de 76 grammes.

Chez les souris, au nombre de 29, la durée moyenne de la maladie a été de 17 jours. Maximum : 34 jours.

Le poids moyen du corps a été de 16 grammes, et le poids moyen de la rate de 0gr,65. Maximum : 1gr,10.

Je n'ai pas noté chez les souris d'infections à marche très lente, avec hypertrophie énorme de la rate, comme on en observe souvent dans les infections produites par *Tr. dimorphon*.

Chez les chiens, les cobayes, les rats et les souris, la maladie s'est toujours terminée par la mort. Les trypanosomes étaient nombreux ou très nombreux, chez ces animaux, à la dernière période de la maladie.

Agent pathogène. — Dans le sang frais, les mouvements du trypanosome sont très vifs, ce qui ne permet pas de constater qu'il se présente sous deux formes bien distinctes.

Dans les frottis de sang desséché, fixé et coloré par les procédés ordinaires (procédé de Giemsa ou mon procédé), on distingue, comme cela est représenté dans la figure III, des formes longues et minces et des formes courtes et larges.

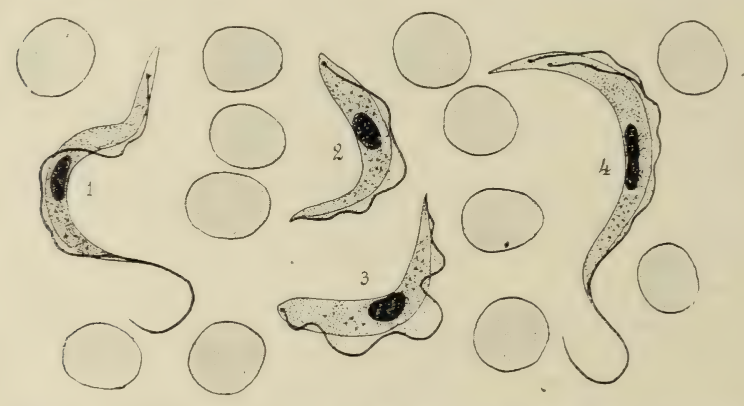


Fig. III. — Sang de rat infecté avec *Tr. Pecaudi*. 1, grande forme mince du parasite. 2, 3, petites formes larges. 4, grande forme en voie de division. Gr. 1800 D. environ.

1° *Formes longues et minces.* — Ces trypanosomes mesurent de 25μ à 35μ de long sur 1μ,5 environ de large. L'extrémité postérieure est plus ou moins effilée, parfois comme épointée. La membrane ondulante est étroite. Le flagelle a une partie libre assez longue. Vers la partie moyenne du corps, on distingue le noyau qui est allongé dans le sens de l'axe du corps. Le

centrosome, bien visible, est situé en général assez loin de l'extrémité postérieure. Le protoplasme est homogène.

Les formes en voie de division ne sont pas rares. La bipartition qui commence par le centrosome se poursuit par le flagelle, par le noyau et enfin par le protoplasme.

2° *Formes courtes et larges.* — Ces trypanosomes mesurent de 14 à 20μ de long, sur 3μ et parfois 4μ de large. L'extrémité postérieure forme un cône très court. La membrane ondulante, très large, est peu plissée (3 à 4 plis); le flagelle n'a pas de partie libre, le protoplasme se prolongeant jusqu'à l'extrémité antérieure. Vers la partie moyenne du corps, on trouve un noyau arrondi; le centrosome est situé près de l'extrémité postérieure (distance un peu variable). Le protoplasme est homogène ou bien il montre des granulations chromatiques.

Les formes de division par bipartition sont plus rares que pour les grands trypanosomes.

Le rapport existant entre le nombre des grandes formes et celui des petites est très variable; tantôt les grandes formes dominent de beaucoup, tantôt ce sont les petites formes qui sont les plus nombreuses. Chez un même animal, on peut observer à cet égard de grandes modifications. Un rat dont le sang a été examiné à différentes reprises avait, au début, de grandes formes minces en nombre bien supérieur à celui des petites formes larges; pendant le cours de l'infection, j'ai noté que les petites formes dominaient; enfin, à la dernière période, c'étaient de nouveau les grandes formes qui étaient devenues les plus nombreuses.

Chez tous les animaux en expérience, du mois de mai 1906 au mois d'avril 1907, j'ai constaté l'existence des deux formes.

Les stades intermédiaires sont rares.

Nature du trypanosome du Baleri. — C'est évidemment avec *Tr. dimorphon* que ce trypanosome a le plus de ressemblance.

Tr. dimorphon se présente, comme son nom l'indique, sous deux formes, l'une grande, l'autre petite, mais ces formes diffèrent assez notablement de celles décrites ci-dessus; la forme allongée n'a pas, en général, de flagelle libre et la petite forme n'atteint pas les dimensions en largeur de la petite forme de *Tr. Pecaudi*. Ces différences morphologiques ne suffiraient pas d'ailleurs à séparer ces deux trypanosomes. Dutton et Todd

disent avoir observé chez des animaux infectés par *Tr. dimorphon* de grandes formes avec flagelles libres et de petites formes trapues [1].

On pouvait se demander si, à la suite d'une série de passages chez les animaux de laboratoire, le trypanosome du Baleri ne se modifierait pas, et ne se présenterait pas sous les mêmes aspects que *Tr. dimorphon*. Cette hypothèse ne s'est pas réalisée jusqu'ici et ne me paraît pas devoir se réaliser.

Le *Tr. Pecaudi* que je conserve depuis une année et qui a passé par différents animaux, par cobayes principalement, se présente toujours avec ses deux formes, et la forme longue et effilée a toujours un flagelle libre. D'un autre côté, le *Tr. dimorphon* qui m'a été donné par Todd et Dutton, et qui est conservé au laboratoire de l'Institut Pasteur depuis quatre ans, a gardé ses caractères morphologiques, malgré de très nombreux passages par différentes espèces animales.

Au point de vue symptomatique, on peut noter des différences assez sensibles entre les infections produites par *Tr. dimorphon* d'une part et par *Tr. Pecaudi* d'autre part. C'est ainsi que, chez les souris inoculées avec *Tr. Pecaudi*, je n'ai pas observé les infections à marche lente avec hypertrophie énorme de la rate qui sont communes chez ceux de ces rongeurs qui ont été inoculés avec *Tr. dimorphon* [2].

Il était important de rechercher si un animal ayant résisté à l'infection par *Tr. Pecaudi*, et ayant acquis une immunité solide pour ce virus, aurait également l'immunité pour le *Tr. dimorphon*. Le mouton provenant de Ségou ayant guéri et s'étant montré réfractaire à une nouvelle inoculation de son trypanosome, j'ai pu réaliser cette expérience.

Observation III. — Un mouton inoculé le 8 mars 1906 à Ségou sur une ânesse infectée de trypanosomiase à Garo, en novembre 1904, est ramené en France par M. Cazalbou et m'est remis le 3 mai 1906. L'examen histologique du sang du mouton fait à diverses reprises dans le cours des mois de mai, juin et juillet, est négatif.

Le 6 mai, j'inocule 2 cobayes et 2 souris; les cobayes reçoivent chacun

1. J.-E. Dutton et J.-L. Todd, First Rep. of the trypanosomiasis exped. to Senegambia, *Liverpool Sch. of trop. med.*, Mem. XI, 1903. Voir notamment planche I. — Des mêmes, Trypanosomes, trypanosomiasis, etc., Même rec., Mem. XVI, 1905, p. 25. Il est possible que Dutton et Todd aient observé en Afrique *Tr. Pecaudi*, en même temps que *Tr. dimorphon*.

2. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et trypanosomiases*, 1904, p. 204.

3 c. c. de sang. Les cobayes et les souris s'infectent. Les cobayes meurent en 22 et 34 jours, les souris en 18 et 20 jours.

Le 19 juin, le mouton pèse 23kg,500. Aucun signe morbide, les yeux ne sont pas malades. 18 juillet, poids 23 kilos.

Le 16 juillet, on inocule sur le mouton 2 cobayes et 2 souris qui ne s'infectent pas (les animaux ont été suivis jusqu'au 3 septembre).

Le 1er août, le mouton pèse 22kg,500 et le 16, 23 kilos.

Le 3 août, un chien reçoit dans le péritoine 30 c. c. du sang du mouton ; ce chien, qui a été suivi jusqu'au 28 novembre, ne s'est pas infecté.

Le 8 septembre, le mouton est réinoculé avec son virus qui a été conservé sur cobayes. Le cobaye qui sert à l'inoculation a des trypanosomes très nombreux ayant tous les caractères des trypanosomes trouvés sur le mouton à l'arrivée en France.

5 septembre. Le mouton va bien, il pèse 26 kilos.

Le 24 septembre, un chien reçoit dans le péritoine 20 c. c. du sang du mouton ; ce chien ne s'est pas infecté à la date du 3 novembre. Le mouton a donc l'immunité pour le *Tr. Pecaudi*.

Le 16 octobre, le mouton pèse 29 kilos et le 3 novembre, 27 kilos.

Le 3 novembre, j'inocule le mouton à l'oreille avec le *Tr. dimorphon*. La souris, dont le sang est inoculé au mouton, est fortement infectée ; j'inocule sous la peau d'une des oreilles du mouton quelques gouttes du sang de la souris mélangées à de l'eau physiologique citratée.

Le 15 novembre, le mouton pèse 27 kilos.

L'examen histologique du sang du mouton fait le 18 novembre est négatif.

20 novembre. On inocule 3 souris sur le mouton. Les 3 souris sont infectées le 25 novembre, elles meurent en 7, 8 et 10 jours.

Le 1er décembre, le mouton pèse 27 kilos et le 15, 29 kilos ; il ne paraît pas malade.

20 décembre. Trois souris inoculées sur le mouton s'infectent et meurent en 11 jours.

Le 15 janvier 1907, le mouton pèse 30 kilos; il a donc augmenté de poids malgré l'infection par *Tr. dimorphon*.

Une souris inoculée le 20 janvier sur le mouton s'infecte et meurt le 31 janvier.

Le 1er février, le mouton pèse 32 kilos ; le 17 février, 31kg,400.

Le 20 février, on inocule 3 souris qui s'infectent et meurent en 13, 14 et 17 jours; 2 cobayes inoculés le 20 février sont infectés le 7 et le 10 mars.

Le 4 mars, le mouton pèse 30 kilos. Même poids le 18 mars.

Le 20 mars, on inocule 3 souris qui s'infectent en 8, 10 et 13 jours et meurent en 20, 26 et 31 jours.

Il ressort de cette observation qu'un animal ayant l'immunité pour *Tr. Pecaudi* peut s'infecter de *Tr. dimorphon*, d'où l'on doit conclure que ces trypanosomes appartiennent à deux espèces distinctes.

On pouvait se demander s'il ne s'agissait pas d'une infection double; cette hypothèse qui a été faite par MM. Cazalbou et Pécaud, très admissible au début des recherches sur le Baleri, est infirmée aujourd'hui par un grand nombre de faits.

Pécaud n'a jamais réussi à séparer la grande forme du trypanosome de la petite et je n'ai pas été plus heureux que lui.

Comme la grande forme avec flagelle libre ressemble à *Tr. Evansi* et que la Mbori est enzootique au Soudan français, j'ai pensé qu'il serait intéressant d'inoculer le virus du Baleri à un animal ayant l'immunité pour la Mbori et de voir si, dans ces conditions, les petites formes se développeraient seules. L'expérience suivante démontre qu'une chèvre guérie de Mbori et ayant l'immunité pour cette trypanosomiase, peut s'infecter de Baleri, et que, chez les animaux d'épreuve inoculés sur la chèvre, on retrouve les deux formes caractéristiques de *Tr. Pecaudi:* forme longue, effilée, avec flagelle libre et forme courte, trapue, sans flagelle libre.

Observation IV. — Une chèvre achetée à Paris est inoculée de Mbori le 11 mars 1906. On lui injecte, à la base d'une des oreilles, un peu de sang d'un cobaye fortement infecté de Mbori, mélangé à de l'eau physiologique citratée. La chèvre pèse 28kg,500

Du 11 au 23 mars, la température reste normale. Le 17 mars, la chèvre pèse 29kg,500.

26 mars. On inocule 4 souris qui s'infectent en 4, 6 et 8 jours et meurent en 7 à 21 jours.

Le 3 avril, la chèvre pèse 30 kilogrammes, et le 30 avril, 32 kilogrammes; elle va bien, n'a pas de fièvre.

28 avril. On inocule 4 souris qui s'infectent en 6, 7, 9 et 13 jours et qui meurent en 9, 14 et 17 jours.

28 mai. On inocule 2 souris qui ne se sont pas infectées à la date du 27 juillet.

Le 31 mai, la chèvre pèse 35kg,500. Cornées un peu troubles.

Le 19 juin, la chèvre pèse 37kg,500.

Le 10 juin, on injecte à un chien, dans le péritoine, 20 c.c. du sang de la chèvre; le chien est infecté le 28 juin, il meurt le 6 juillet.

Le 2 juillet, la chèvre pèse 38 kilogrammes et le 18 juillet 40kg,500. État général excellent.

25 juillet. Un chien reçoit, dans le péritoine, 20 c. c. du sang de la chèvre. Il ne s'est pas infecté à la date du 2 septembre.

L'infection par la Mbori peut être considérée comme guérie à la date du 25 juillet, après une durée de 4 mois environ.

Le 1er août, la chèvre pèse 41 kilogrammes et le 16, 39kg,500.

Le 2 septembre, la chèvre est réinoculée avec le virus de la Mbori.

Le 5 septembre, la chèvre pèse 44 kilogrammes, et le 15, 41kg,500. Aucun symptôme morbide.

Le 17 septembre, on injecte à un chien, dans le péritoine, 20 c. c. du sang de la chèvre. A la date du 26 octobre, le chien ne s'est pas infecté. La chèvre a donc acquis l'immunité pour la Mbori.

Le 1er octobre, la chèvre pèse 42 kilogrammes, et le 15 octobre, 46 kilogrammes.

Le 26 octobre, la chèvre est inoculée avec *Tr. Pecaudi*. L'inoculation est faite à la base d'une des oreilles avec le sang d'un cobaye fortement infecté, mélangé à de l'eau physiologique citratée.

Les 3 et 16 novembre, la chèvre pèse 42 kilogrammes.

14 décembre. On inocule sur la chèvre : 1 chien et 3 souris : le chien reçoit 25 c. c. de sang dans le péritoine. Le chien est infecté le 20 décembre, il meurt le 31 décembre. Les souris s'infectent en 7 jours et meurent en 12 et 14 jours. On trouve, dans le sang des souris, les deux formes caractéristiques de *Tr. Pecaudi*.

Le 31 décembre, la chèvre pèse 40 kilogrammes, et le 15 janvier 1907, 38 kilogrammes.

Le 14 février, on inocule 3 souris qui ne s'infectent pas.

Le 1er février, la chèvre pèse 39kg,500 et le 17, 42 kilogrammes. Il n'y a jamais eu de fièvre ni de symptômes oculaires.

Le 4 mars, la chèvre pèse 42 kilogrammes, et le 18, 42 kilogrammes.

12 mars. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30c. c. du sang de la chèvre ; ce chien ne s'est pas infecté à la date du 19 avril..

Une expérience de sérodiagnostic, faite le 26 mai 1906, a donné les résultats suivants : du sérum de chèvre, actif contre *Tr. Evansi* en mélange, aux doses de 0 c. c., 50 et de 0 c. c., 25 s'est montré complètement inactif contre *Tr. Pecaudi*, aux doses de 0 c. c., 50 et de 0 c. c., 75.

La grande forme de *Tr. Pecaudi* ne peut pas être rapprochée de *Tr. Cazalboui* (dont elle diffère d'ailleurs morphologiquement) puisqu'elle s'observe dans les infections des petits mammifères auxquels *Tr. Cazalboui* n'est pas inoculable.

Une souris ayant l'immunité pour le *Tr. soudanense* dont nous allons nous occuper s'est infectée à la suite de l'inoculation de *Tr. Pecaudi* et elle est morte rapidement.

III

Trypanosomiase due a **Tr. soudanense**.

Chez un chien inoculé à Ségou sur un dromadaire, et ramené en France par M. Cazalbou, j'ai trouvé un trypanosome

très voisin, au point de vue morphologique, de *Tr. Evansi*, mais qui, au point de vue de l'action pathogène, n'a pas pu être identifié à ce trypanosome; je n'ai pas terminé encore les recherches relatives à ce trypanosome que je désignerai sous le nom de *Tr. soudanense*, bien qu'il ne soit pas prouvé qu'il s'agisse d'une espèce nouvelle.

Action pathogène sur différentes espèces animales. — Je manque de renseignements sur les symptômes que présentait le dromadaire qui a servi à inoculer le chien ramené en France.

Chez les chèvres et chez les moutons inoculés avec *Tr. soudanense*, le seul symptôme observé d'ordinaire est un léger amaigrissement. Il n'y a pas de poussée fébrile bien marquée, pas d'œdèmes, pas d'ophtalmies.

La maladie paraît se terminer souvent par guérison chez ces animaux. De deux chèvres inoculées à Paris, l'une a guéri au bout de 4 mois 1/2 environ (Obs. II); l'autre est encore infectée mais très faiblement au bout de 6 mois 1/2 (Obs. III). Un mouton est encore infecté après 8 mois 1/2, mais la virulence du trypanosome va en diminuant et l'on peut espérer que la maladie se terminera par guérison.

Je donne ici l'observation du mouton, les observations des chèvres seront résumées plus loin.

Observation I. — Un mouton est inoculé le 15 juillet 1906 avec *Tr. soudanense*. A cet effet, on injecte sous la peau, à la base d'une des oreilles, du sang de cobaye fortement infecté de *Tr. soudanense*.

Le 18 juillet, le mouton pèse 26 kilogrammes et le 1er août 26kg,800. Aucun signe d'infection. L'examen histologique du sang fait à plusieurs reprises, pendant les mois d'août et de septembre, est toujours négatif.

Le 30 juillet, on inocule sur le mouton 4 souris ; 2 souris s'infectent en 6 jours et meurent en 14 et 20 jours; les 2 autres souris (dont une noire) ne s'infectent pas.

Le 30 août, on inocule sur le mouton 4 souris blanches ; elles s'infectent en 6 jours et meurent en 10, 11 et 13 jours.

Le 5 septembre, le mouton pèse 31kg,500 et le 15 septembre 29kg,500. Malgré l'infection, le mouton a donc augmenté de poids. Aucun symptôme morbide.

Le 29 septembre, on inocule 3 souris, 2 s'infectent en 8 jours, la 3e ne montre des trypanosomes que 19 jours après l'inoculation ; 2 des souris sont mortes en 23 et 29 jours; la 3e a guéri.

Le 1er octobre, le mouton pèse 29 kilogrammes et le 16 octobre, 34 kilogrammes. Le mouton est en excellent état.

Le 30 octobre, on inocule 3 souris qui sont prises en 6 jours et qui meurent en 9 et 10 jours.

Le 3 novembre, le mouton pèse 34 kilogrammes et le 15 novembre, 35 kilogrammes.

Le 30 novembre, on inocule 3 souris. Une des souris ne s'infecte pas : les 2 autres s'infectent en 6 et 20 jours et meurent en 10 et 25 jours.

Le 1er décembre, le mouton pèse 36kg,500, et le 31 décembre, 37 kilogrammes.

Le 29 décembre, on inocule 3 souris qui s'infectent en 5 à 10 jours et qui meurent en 24 et 25 jours.

Le 15 janvier 1907, le mouton pèse 36kg,600.

Le 29 janvier, on inocule 3 souris qui s'infectent en 6, 7 et 12 jours ; 2 des souris meurent en 12 et 20 jours, la 3e guérit.

Le 1er février, le mouton pèse 37 kilogrammes et le 17, 41 kilogrammes.

Le 1er mars, 3 souris sont inoculées, elles s'infectent en 9, 12 et 15 jours et meurent en 17, 21 et 26 jours.

Le 4 mars, le mouton pèse 42 kilogrammes et le 18, 43 kilogrammes.

Le 1er avril, 3 souris sont inoculées : 2 s'infectent en 13 et 18 jours, la 3e ne s'est pas infectée à la date du 20 avril.

Chez le chien, l'incubation est de 10 jours environ. La multiplication des trypanosomes procède par poussées, dans l'intervalle desquelles l'examen histologique du sang peut être négatif. Les trypanosomes sont en général nombreux au moment de la mort. Les symptômes les plus constants sont l'amaigrissement et, à la dernière période, la faiblesse générale. Deux chiens sur 6 ont présenté de la kératite. Dans un des cas, la kératite était double ; dans l'autre, il s'agissait d'une kérato-conjonctivite qui avait déterminé l'abolition complète de la vision d'un côté. La cornée était opaque et, à l'autopsie, on trouva dans la chambre antérieure un caillot ancien qui avait pris la forme de cette chambre.

La durée moyenne de la maladie, chez les chiens, a été de 50 jours. Maximum : 85 jours ; minimum : 27 jours. Le maximum a été observé chez le chien inoculé à Ségou ; il est probable que les chiens du Soudan sont plus résistants à cette infection que les chiens de nos climats.

A l'autopsie, la lésion principale est l'hypertrophie de la rate. Chez les 6 chiens inoculés, le poids moyen du corps était de 9kg,35 et le poids moyen de la rate de 80 grammes. Un chien de 8 kilogrammes avait une rate du poids de 170 grammes.

Les ganglions lymphatiques ont été notés comme augmentés de volume dans différentes régions du corps.

Parmi les lésions observées, il faut citer encore des épanchements de sérosité dans le péricarde, dans les plèvres ou dans le péritoine.

L'infection paraît être toujours mortelle chez le chien; il en est de même chez le cobaye.

L'infection du cobaye procède par poussées comme celle du chien. L'incubation est de 10 à 15 jours. Les trypanosomes sont nombreux ou très nombreux au moment de la mort.

La durée moyenne de la maladie, chez 13 cobayes, a été de 95 jours. Maximums : 150 et 131 jours; minimum : 59 jours.

A l'autopsie, la seule lésion constante est l'augmentation de volume de la rate ; le poids moyen du corps était de 379 grammes et le poids moyen de la rate de 2gr,72. Chez un cobaye du poids de 525 grammes, la rate pesait 5 grammes.

Trois rats inoculés avec *Tr. soudanense* sont morts en 10, 11 et 12 jours. Le poids moyen des rats était de 220 grammes et le poids moyen de la rate, de 3 grammes.

L'évolution de la maladie est irrégulière chez les souris.

Sur 48 souris inoculées avec le *Tr. soudanense*, 5 ont guéri après avoir présenté des infections légères. Une de ces souris n'a pas été réinoculée ; une autre (souris noire) a résisté à 3 réinoculations dans le tissu conjonctif; la 3e (souris grise) a résisté à une réinoculation dans le tissu conjonctif et à une injection intra-péritonéale du virus ; la 4e a résisté à une réinoculation dans le tissu conjonctif, mais s'est réinfectée après injection du virus dans le péritoine ; enfin la 5e s'est réinfectée après une réinoculation dans le tissu conjonctif et a succombé rapidement.

Les souris noires et les grises ont montré plus de résistance au virus que les blanches.

Les trypanosomes ont été toujours notés comme très nombreux à la dernière période de la maladie.

La durée moyenne de la maladie chez les souris qui sont mortes a été de 22 jours ; maximums : 66 et 96 jours ; minimum : 7 jours ; la durée est donc très variable.

Chez 32 souris dont l'autopsie a été faite, le poids moyen du corps était de 17gr,68 et le poids moyen de la rate, de 0gr,72; chez 2 souris, le poids de la rate s'élevait à 2 grammes.

Nature de Tr. soudanense. — Au point de vue morphologique,

Tr. soudanense ne me paraît pas pouvoir être distingué de *Tr. Evansi* (ce qui me dispense de le décrire); au point de vue de l'action pathogène, il existe des différences entre ces deux trypanosomes.

Tr. soudanense est moins virulent que *Tr. Evansi;* il produit notamment chez les souris des infections à marche irrégulière, pouvant se terminer spontanément par guérison, contrairement à ce qui arrive dans les infections dues au trypanosome du Surra de l'Inde ou de Maurice, voire même dans la Mbori qui est déjà une variété un peu atténuée du Surra.

Cette différence dans la virulence ne suffirait pas à démontrer que *Tr. soudanense* n'est pas une simple variété de *Tr. Evansi*, mais les expériences qui suivent prouvent qu'un animal ayant l'immunité pour l'un des virus peut être infecté par l'autre, d'où l'on doit conclure qu'il s'agit de trypanosomes appartenant à des espèces distinctes.

Observation II. — Une chèvre neuve pesant 22 kilogrammes est inoculée à deux reprises les 7 et 30 mai avec *Tr. soudanense;* la première inoculation est faite sur le chien venant de Ségou ; comme le chien n'a, à ce moment, que de très rares trypanosomes, je crois utile de répéter l'inoculation le 30, mais avec le sang d'un cobaye qui, inoculé le 5 mai sur le chien, a le 30 mai des trypanosomes nombreux.

L'examen du sang fait le 7 juin est négatif. On inocule ce même jour 4 souris. Les souris s'infectent en 7 à 10 jours ; 3 d'entre elles meurent en 17, 25 et 66 jours, la 4e paraît guérie de la trypanosomiase quand elle meurt le 13 septembre.

Les examens du sang de la chèvre faits les 15, 19 et 27 juin sont négatifs. Aucun symptôme, sauf un léger amaigrissement. Le 19 juin, la chèvre pèse 20kg,500 et le 2 juillet, 21kg,500.

Les examens du sang faits les 4 et 10 juillet sont négatifs.

10 juillet. On inocule 3 souris qui s'infectent en 7 à 9 jours et meurent en 20, 25 et 34 jours.

Pendant les mois de juillet et août, le poids de la chèvre se maintient à 21 kilogrammes. Aucun symptôme. Yeux normaux.

24 août. On inocule 3 souris qui s'infectent en 10 jours et meurent en 16 et 19 jours.

Le 5 septembre, la chèvre pèse 23 kilogrammes, et le 15, 22 kilogrammes.

24 septembre. On inocule 3 souris qui ne se sont pas infectées à la date du 4 novembre.

10 octobre. On injecte à un chien, dans le péritoine, 20 c. c. du sang de la chèvre; à la date du 7 janvier 1907 ce chien ne s'est pas infecté.

Le 10 octobre, la chèvre est réinoculée avec *Tr. soudanense.*

Le 1er octobre, la chèvre pèse 22kg,500, et le 20 octobre, 23 kilogrammes.

25 octobre. On injecte à un chien, dans le péritoine, 25 c. c. du sang de la chèvre : ce chien ne s'infecte pas, il est conservé en observation jusqu'au mois de février 1907. La chèvre a donc acquis l'immunité pour *Tr. soudanense.*

26 novembre. La chèvre est inoculée avec le virus de la Mbori ; à cet effet, je lui injecte sous la peau, à la base d'une des oreilles, du sang de cobaye riche en *Tr. Evansi*, mélangé à de l'eau physiologique citratée.

Le 3 novembre, la chèvre pèse 23 kilogrammes, et le 15, 22 kilogrammes ; le 1er décembre, 23 kilogrammes, et le 15 décembre, 24kg,500.

Du 6 au 8 décembre, il y a une légère poussée fébrile, la température de la chèvre qui variait de 38°,5 à 39°, s'élève à 39°,7. Pendant le reste du mois de décembre, la température peut être considérée comme normale.

Des examens du sang de la chèvre faits les 6 et 11 décembre sont négatifs.

Le 11 décembre, on inocule un chien qui reçoit, dans le péritoine, 25 c. c. du sang de la chèvre et 3 souris. Le chien s'infecte et meurt le 26 décembre. Les souris ne se sont pas infectées à la date du 24 janvier 1907.

10 janvier 1907. On inocule sur la chèvre : 1 chien (25 c. c. de sang) et 3 souris. Le chien est infecté le 19 janvier, il meurt le 16 février. Une des souris s'infecte et meurt en 9 jours, les 2 autres ne sont pas infectées à la date du 12 février.

L'apyrexie persiste pendant le mois de janvier. Aucun symptôme. Le 15 janvier, la chèvre pèse 22 kilogrammes, le 1er février 22 kilogrammes et le 17 février 25 kilogrammes.

9 février. On injecte à un chien, dans le péritoine, 30 c. c. du sang de la chèvre. A la date du 19 avril le chien ne s'est pas infecté.

Observation III. — Une chèvre achetée à Paris, du poids de 32 kilogrammes, est inoculée de Mbori le 11 mars 1906 ; à cet effet on injecte sous la peau, à la base d'une des oreilles, du sang de cobaye fortement infecté de Mbori mélangé avec un peu d'eau physiologique citratée.

Du 11 au 22 mars, pas de fièvre. Du 23 mars au 13 avril, poussée fébrile ; le maximum de température observé est de 40° (température normale 39°).

L'examen du sang de la chèvre fait le 24 mars est négatif.

Le 26 mars, on inocule 4 souris qui s'infectent en 4 à 5 jours et meurent en 7 à 9 jours.

A partir du 14 avril, la température de la chèvre est normale. Le 3 avril la chèvre pèse 30 kilogrammes.

28 avril. 4 souris sont inoculées ; elles s'infectent en 7 à 13 jours.

Le 31 mai, la chèvre pese 31 kilogrammes.

2 souris inoculées le 28 mai ne se sont pas infectées à la date du 16 juillet.

Le 16 juin, on injecte à un chien, dans le péritoine, 20 c. c. du sang de la chèvre. Ce chien ne s'est pas infecté à la date du 22 juillet.

Le 19 juin, la chèvre pèse 33kg,500 ; le 2 juillet, 32kg,500, et le 18 juillet, 34kg,500.

Le 2 août, la chèvre est réinoculée de Mbori.

Le 18 août, on injecte à un chien, dans le péritoine, 20 c. c. du sang de la chèvre. A la date du 10 octobre, le chien ne s'est pas infecté. La chèvre guérie de Mbori a donc acquis l'immunité pour cette trypanosomiase.

Le 5 septembre, la chèvre pèse 39 kilogrammes. Le 15 septembre le poids est le même.

Le 17 septembre, la chèvre est saignée et son sérum est essayé sur *Tr. soudanense* et sur *Tr. Evansi* (de la Mbori). Le sérum, tout à fait inactif sur le premier de ces virus, ne montre qu'une activité très faible sur le second.

18 septembre. La chèvre est inoculée avec *Tr. soudanense*; à cet effet j'injecte sous la peau, à la base d'une des oreilles, du sang de cobaye fortement infecté, mélangé à un peu d'eau physiologique citratée.

Du 18 au 29 septembre, la température ne dépasse pas 39°. Du 29 septembre au 15 octobre, on observe une légère poussée fébrile (la température ne dépasse pas 39°,5), puis la température redevient normale. Des examens du sang faits les 2, 11 et 17 octobre sont négatifs.

Le 3 octobre, on inocule sur la chèvre : 3 souris et 1 chien (25 c. c. de sang). Les 3 souris s'infectent en 6 à 7 jours et meurent en 11, 12 et 19 jours. Le chien s'infecte en 10 jours et meurt en 46 jours.

Le 1er octobre, la chèvre pèse 38 kilogrammes, et le 16, 42 kilogrammes.

Le 3 novembre, on inocule 3 souris qui ne se sont pas infectées à la date du 6 décembre.

20 novembre. Un chien reçoit, dans le péritoine, 25 c. c. du sang de la chèvre. Le chien s'infecte en 10 jours et meurt en 27 jours.

Le 1er décembre, la chèvre pèse 41 kilogrammes. Le 31 décembre le poids est le même. Aucun symptôme morbide.

Le 13 décembre, un chien reçoit, dans le péritoine, 25 c. c. du sang de la chèvre. L'existence de trypanosomes est notée seulement 28 jours après l'inoculation ; le chien meurt en 37 jours.

Le 14 janvier 1907, un chien reçoit, dans le péritoine, 25 c. c. du sang de la chèvre. Le chien est infecté au bout de 15 jours ; il meurt en 53 jours.

Le 1er février, la chèvre pèse 42 kilogrammes et le 17, 40 kilogrammes.

Le 14 février, un chien reçoit, dans le péritoine, 25 c. c. du sang de la chèvre ; il s'infecte en 9 jours et meurt en 66 jours.

Le 1er avril, un chien reçoit, dans le péritoine, 30 c. c. du sang de la chèvre ; le 15 avril, on trouve dans son sang des trypanosomes très rares. La chèvre est donc encore infectée 194 jours après l'inoculation de *Tr. soudanense*.

La chèvre qui fait l'objet de l'observation II avait acquis l'immunité pour *Tr. soudanense* quand elle a été inoculée avec le virus de la Mbori ; elle s'est infectée et la durée de l'infection, qui paraît terminée, a été de 75 jours.

Chez la chèvre qui fait l'objet de l'observation III, l'expérience a été réalisée en sens contraire. La chèvre qui avait acquis l'immunité pour la Mbori a été inoculée avec *Tr. souda-*

nense; elle s'est infectée et l'infection n'est pas encore terminée au bout de 6 mois 1/2.

Les infections dues à *Tr. Evansi* chez la première de ces chèvres et à *Tr. soudanense* chez la seconde, ont persisté trop longtemps pour qu'on puisse admettre l'existence de réinfections légères dues à des variétés des virus ayant produit les premières infections.

Tr. soudanense ne peut être confondu ni avec *Tr. Cazalboui*, ni avec *Tr. Pecaudi*; ses caractères morphologiques diffèrent notablement de ceux de ces derniers trypanosomes; en outre, sa virulence pour le chien, le cobaye, le rat et la souris, le sépare nettement de *Tr. Cazalboui*.

Il me paraît improbable qu'il s'agisse de *Tr. gambiense*. L'existence de ce dernier parasite chez les animaux à l'état d'infection naturelle paraît très rare, même dans les régions où la trypanosomiase humaine est commune; d'autre part, la virulence de *Tr. soudanense* pour les petits rongeurs (pour le rat principalement) est plus forte que celle de *Tr. gambiense*. On pourra s'assurer si un animal ayant l'immunité pour *Tr. soudanense* peut être infecté par *Tr. gambiense*, ce qui me paraît très probable.

C'est avec le trypanosome des épizooties du Sud algérien qui ont été décrites sous les noms de El Debab et de mal de la Zousfana [1] que *Tr. soudanense* me paraît présenter les plus grandes analogies. L'action pathogène assez spéciale des deux virus sur les souris impose ce rapprochement. Il y aura lieu de rechercher si un animal ayant acquis l'immunité pour *Tr. soudanense* peut s'infecter avec le virus de El Debab (qui est vraisemblablement le même que celui du mal de la Zousfana) et réciproquement.

IV

MOUCHES PIQUANTES DU HAUT-NIGER; LEUR RÔLE DANS LA PROPAGATION DES TRYPANOSOMIASES [2].

Les *Glossina* ne s'observent que dans des régions assez

1. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et trypanosomiases*, Paris, 1904, p. 187 et 189. — Ed. et Et. Sergent, ces *Annales*, août 1906.

2. A. Laveran, Les trypanosomiases dans l'Ouest africain français, *Acad. des Sc.*, 31 octobre 1904. — Du même, Observ. au sujet d'une communic. de M. Cazalbou, *Soc. de Biologie*, 1er avril 1905. — Du même, Contrib. à l'étude de la répartition des mouches tsétsé, etc., *Acad. des Sc.*, 4 décembre 1905. — Du même, Nouvelle contrib. à l'étude des mouches piquantes de l'Afrique intertropicale, *Acad. des Sc.*, 11 mars 1907.

limitées du Haut-Niger. M. Cazalbou m'a adressé au mois de septembre 1905, de Garo (sur le Bani), plusieurs centaines de mouches tsétsé capturées sur des indigènes ou par M. Cazalbou sur lui-même ; il s'agissait, dans tous les cas, de *Gl. palpalis*. La *Gl. tachinoides* existe aussi dans cette région.

De Dinguiray, j'ai reçu des *Glossina morsitans*. (Envoi du Dr Tautain.)

M. le Dr Kermorgant, inspecteur général du service de santé des troupes coloniales, a bien voulu me confier récemment l'examen de nombreux échantillons de Diptères qui lui avaient été envoyés par M. le Dr Chagnolleau (mission Desplagnes). Dans la lettre accompagnant l'envoi de ces Diptères, M. Chagnolleau annonce que la mission vient d'arriver à Siguiri sur le Niger après avoir traversé la Guinée française dans sa partie la plus large et que les cas de maladie du sommeil constatés chez des indigènes ont été rares malgré la présence de nombreuses tsétsé.

Parmi les échantillons de tsétsé envoyés par M. Chagnolleau ceux qui avaient été recueillis sur les rives du Tinkisso (affluent du Niger) étaient particulièrement nombreux.

Les *Glossina*, au nombre de 155, appartenaient aux espèces suivantes : *Gl. palpalis*, *Gl. tachinoides*, *Gl. morsitans* (en petit nombre).

Les *Glossina* ne s'observent, ni dans le Macina ni à Ségou ni dans la région de Bammako-Kati, mais les *Tabanus* et les *Stomoxys* abondent.

La région du Macina est infestée par des mouches piquantes en quantité invraisemblable ; chevaux et bœufs en sont couverts ; le nombre de ces mouches est si grand, pendant la saison des pluies (de juin à octobre), que les habitants évitent de sortir de leurs cases [1].

Les tabanides les plus communs au Macina sont : *T. biguttatus* var. de Wiedemann, *T. dorsivitta* Walk. et *T. unimaculatus* Macq.

Les espèces suivantes ont été déterminées par M. Coquillett (laboratoire de M. Howard à Washington).

Taons capturés sur des dromadaires à Tombouctou, au mois de mars 1905. *T. rufipes* Macq.

1. L. Cazalbou, *Soc. de Biologie*, 1er avril 1905.

Taons capturés entre Sinder et Dountzou, au mois d'avril 1905. *T. gratus* Lœw.

Taons capturés entre Dountzou et Finko, le 10 avril 1905. *T. gratus*.

Taons de Kati. *T. guineensis* Wied. et un *Tabanus* appartenant probablement à une espèce nouvelle.

Les espèces suivantes ont été déterminées par M. Surcouf au Muséum d'histoire naturelle.

Diptères capturés dans les écuries du quartier d'artillerie à Kati. (Envoi du 4 janvier 1907 de M. Pécaud.) *T. biguttatus* Wied. var. *croceus* qui établit un passage entre la var. *unimaculatus* Macq. et le type; une espèce nouvelle voisine de *T. canus* Karsch que M. Surcouf se propose de décrire sous le nom de *T. canescens; T. ditaeniatus; T. latipes; T. taeniola; T. socius; T. serratus* W.; *T. gratus; T. rufipes*, enfin *Stomoxys calcitrans*.

D'autres stomoxes provenant du Soudan français n'ont pas encore été déterminés.

Les espèces suivantes ont été observées à Dinguiray : *T. taeniola* Pal. de Beauv. ; *T. ditaeniatus* Macq. ; *T. pluto* Walk.

Au Macina, M. Cazalbou a constaté l'existence de *Notoglossa rufipes* Taschenberg. Cette guêpe carnassière s'attaque aux stomoxes; il serait intéressant de rechercher si elle ne pourrait pas être utilisée pour la destruction des *Glossina*.

Des *Glossina palpalis* capturées vivantes sur les bords du Bani et transportées à Ségou ont infecté, 2 fois sur 7, des chiens soumis à leurs piqûres[1]. La nature de la trypanosomiase inoculée dans ces conditions est restée incertaine.

Il résulte d'une expérience faite par G. Bouffard à Bammako que les stomoxes transmettent la Souma[2]. Les stomoxes avec lesquels Bouffard a expérimenté n'ont pas encore été déterminés que je sache; il est probable d'ailleurs que les différentes espèces de stomoxes qui se rencontrent au Soudan français peuvent servir d'agents de transmission des trypanosomiases animales qui, nous l'avons vu, sont endémiques dans des régions où l'on ne rencontre pas de *Glossina*.

1. L. Cazalbou. Expér. d'infection de trypanosomiase par des *Gl. palpalis* infectées naturellement. *Acad. des Sc.*, 17 septembre 1906.

2. G. Bouffard, *op. cit.*, *Soc. de Biologie*, 19 janvier 1907.

LES TRYPANOSOMIASES ANIMALES DE LA GUINÉE FRANÇAISE

PAR LE D[r] GUSTAVE MARTIN

MÉDECIN-MAJOR DES TROUPES COLONIALES

Nous avons eu l'occasion, durant notre mission de vaccine en Guinée française (avril 1905-février 1906), de rencontrer de nombreuses trypanosomiases animales dans les régions que nous traversions. L'étude de ces trypanosomiases, poursuivie à travers les passages par espèces animales variées, a pu être continuée, de mars à octobre 1906, à l'Institut Pasteur de Paris, où M. Mesnil nous a donné une place dans son laboratoire et nous a guidé dans nos recherches.

Notre étude a donné lieu à une publication détaillée, faite sous les auspices du gouvernement de l'Afrique occidentale française[1]. M. le docteur Roux a bien voulu nous demander de résumer, pour les lecteurs des *Annales,* nos principaux résultats. Les circonstances nous ont obligé de différer jusqu'à maintenant cette publication. Nous la complèterons en ce qui concerne le sort des Ruminants infectés avec un de nos trypanosomes. Nous la ferons précéder d'un exposé des faits nouveaux que nous avons observés lors d'un séjour récent (novembre-décembre 1906) en Guinée, et qui sont venus confirmer notre opinion relativement au rôle important joué par le *T. dimorphon*, dans les épizooties qui sévissent à l'état chronique ou aigu dans cette colonie de l'Afrique occidentale française.

I. — TRYPANOSOMIASE DES MULETS ET DES BŒUFS DE GUINÉE.

(*Chantiers du chemin de fer de Conakry au Niger.*)

Au commencement de l'année 1906, 27 MULETS étaient en service sur le chantier du chemin de fer de Conakry au Niger. L'un d'eux était arrivé à la colonie avant 1902, les autres en août 1902. J'eus l'occasion de les examiner en janvier 1906 à Fafota (près de Kindiah). Des trypanosomes ressemblant au *T. dimorphon*[2] furent trouvés dans le sang de l'un d'eux. Un rat

1. G. MARTIN. *Les Trypanosomiases de la Guinée française*. Paris, Maloine oct. 1906, 1 vol. de 124 pages, fig. *in* texte.
2. *Op. c.*, p. 16.

inoculé montra, après 7 jours d'incubation, des parasites nombreux et mourut après 4 jours d'infection.

Le 10 janvier 1906, parvenaient sur les chantiers 20 mulets provenant du dépôt de remonte de Blidah et le 24 juin, 20 nouveaux animaux, ceux-ci provenant du dépôt de remonte de Constantine.

Le 15 novembre 1906, sur les 27 mulets existant à la date du 1er janvier 1906 et sur les 40 nouveaux arrivés de janvier et juin (soit 67 bêtes), il n'en restait plus que 10. 57 étaient morts après avoir présenté des symptômes classiques de trypanosomiase (amaigrissement, faiblesse du train postérieur, etc.). La mortalité avait donc atteint 85 0/0 de l'effectif total.

Nos tableaux de mortalité pour 1906 et, en ce qui concerne les mulets arrivés en 1902, pour les années précédentes, ont été dressés d'après les documents mis aimablement à notre disposition et les renseignements gracieusement donnés par les officiers du chemin de fer et particulièrement le commandant Almand et le capitaine Plourin.

1° Des 2 mulets arrivés sur les chantiers du chemin de fer de Guinée avant 1902, 1 mourait le 15 *mars* 1905, après 1.155 journées de séjour, l'autre était encore en service au 15 septembre 1906 (1,695 journées de séjour). A cette date, nous n'avons pas vu de trypanosomes dans son sang;

2° Sur 35 mulets arrivés en *août* 1902, 9 mouraient en 1905 (2 en janvier, 1 en février, 3 en mars, 2 en avril, 1 en août), 24 mouraient en 1906 (8 en janvier, 4 en février, 1 en mai, 3 en juin, 1 en juillet, 1 en août, 3 en septembre, 1 en octobre, 2 en novembre): 2 sont en service au 15 novembre 1906;

3° Sur les 20 mulets provenant du dépôt de remonte de Blidah, arrivés le 10 janvier 1906, 1 mourait le 9 mars, soit 2 mois après. Voici la mortalité : 2 décès en mars, 2 en avril, 3 en mai, 4 en juillet, 4 en août, 4 en septembre. Total : 19 décès, 1 survivant;

4° Sur les 20 mulets arrivés le 24 juin 1906 du dépôt de remonte de Constantine, 1 mourait le 22 juillet, soit moins d'un mois après. On a noté 1 décès en juillet, 4 en août, 3 en septembre, 4 en octobre, 2 en novembre. En tout, 14 décès ; 6 survivants.

Les dix mulets encore vivants sont examinés le 14 novembre 1906 à Souquetta. Ils sont affaiblis et traînent les pattes de derrière en marchant.

Le sang d'un des mulets (celui arrivé avant 1902) contient de très nombreux parasites. Le sang de 4 des mulets arrivés en juin 1906, en renferme d'assez nombreux.

A l'état frais comme à l'état coloré, les trypanosomes ressemblent au *T. dimorphon* (v. fig. 1) sans flagelle libre.

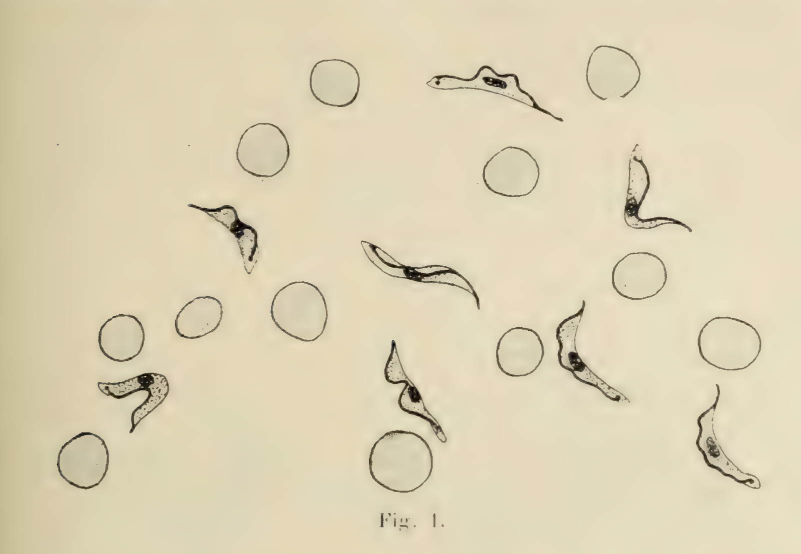


Fig. 1.

Un *rat*, inoculé le 14 novembre, meurt infecté le 25 novembre. Un *cobaye* qui est inoculé avec le sang de ce rat le 22 novembre, meurt en 12 jours, parasité.

Les BOEUFS, dans cette même région, sont également atteints de trypanosomiase. Ils appartiennent aussi au chemin de fer. Il a été impossible de faire une enquête sérieuse un sujet de la mortalité. Dès qu'un animal présente un symptôme de maladie (faiblesse ou amaigrissement), il est abattu pour pouvoir être mangé.

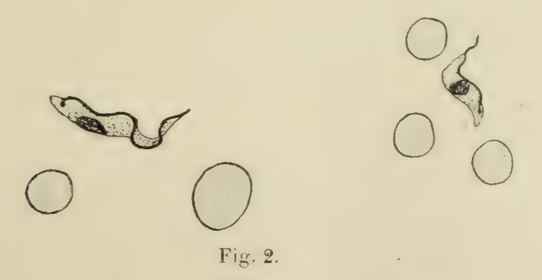


Fig. 2.

Sur 4 plaquettes de sang envoyées par notre camarade des

troupes coloniales Lefebvre, nous avons trouvé sur l'une d'elles des trypanosomiases assez rares rappelant le *T. dimorphon* (v. fig. 2).

II. — Caractères de la maladie spontanée chez les diverses espèces animales

Les mulets et les bœufs ne sont pas les seuls animaux atteints par les trypanosomiases. Nous avons déjà signalé ailleurs[1] avec quelle fréquence nous avions aussi rencontré l'infection natu-

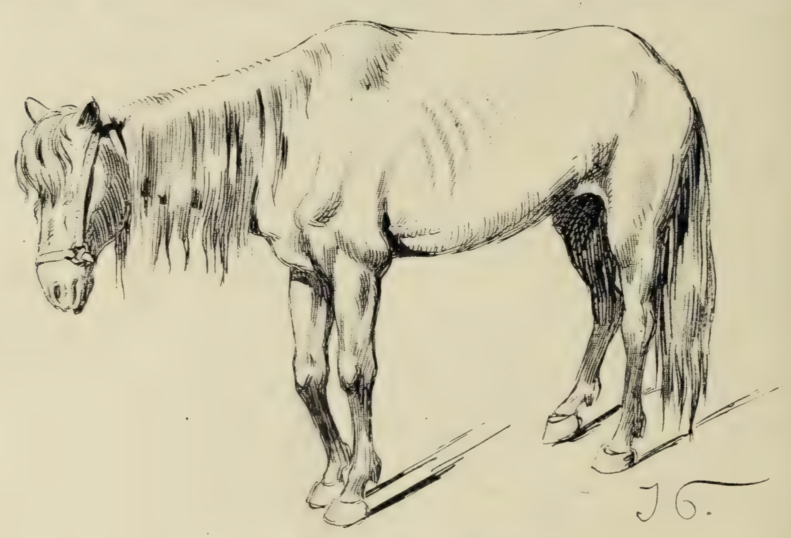
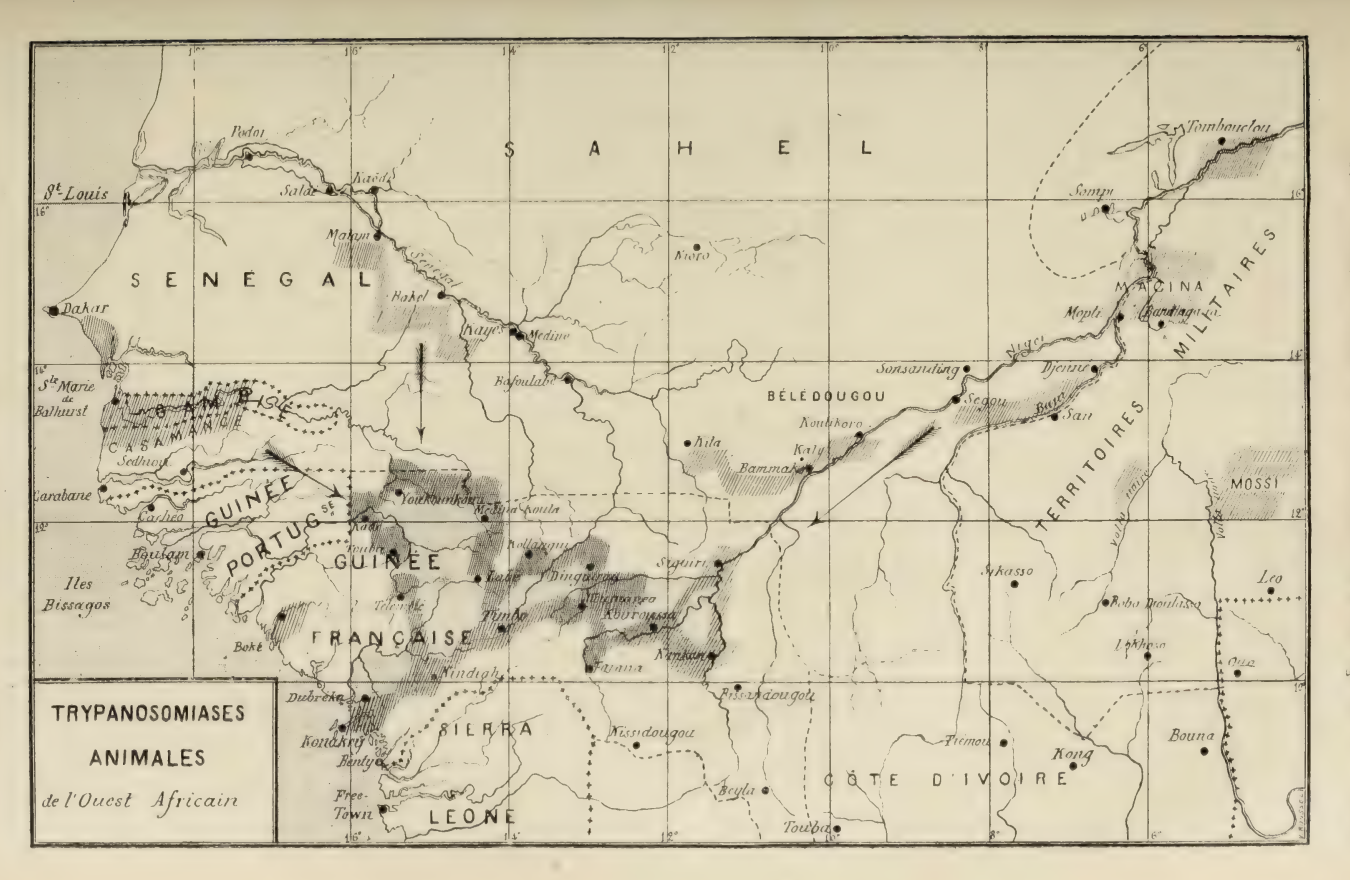


Fig. 3. — Cheval trypanosomé.

relle chez le cheval et l'âne, chez le chien, chez le mouton et la chèvre et même chez le porc. Nous renvoyons à notre opuscule pour le détail de nos observations. Les régions contaminées s'étendent de la Basse-Guinée à la vallée du Niger, et les massifs montagneux du Fouta-Djalon et du Labé ne sont pas épargnés.

La maladie spontanée cause chez les divers animaux des manifestations caractéristiques. C'est peut-être chez l'âne et le cheval que les symptômes sont les plus accusés. Amaigri, affaibli, les muqueuses décolorées, la colonne vertébrale et les côtes saillantes, l'air somnolent, portant la tête basse, « lourde »

1. *C. R. Soc. Biologie,* t. LXI, 21 juillet 1906, p. 107, et *Op. citato.*


TRYPANOSOMIASES
ANIMALES
de l'Ouest Africain
SENEGAL
SAHEL
TERRITOIRES MILITAIRES
MACINA
MOSSI
BÉLÉDOUGOU
GUINÉE FRANÇAISE
GUINÉE PORTUG^{SE}
CASAMANCE
CÔTE D'IVOIRE
SIERRA LEONE
St Louis
Dakar
Ste Marie de Bathurst
Carabane
Cacheo
Iles Bissagos
Podor
Salde
Kaëdi
Matam
Bakel
Kayes
Médine
Bafoulabé
Nioro
Kita
Bammako
Kaly
Koulikoro
Sansanding
Ségou
San
Djenné
Mopti
Sompi
Tombouctou
Sikasso
Bobo Dioulasso
Léo
Kong
Bouna
Tiémou
Siguiri
Kankan
Kouroussa
Dinguiray
Timbo
Labé
Boké
Dubréka
Konakry
Benty
Free-Town
Kissidougou
Beyla
Touba
Niger
Sénégal
Volta

comme disent les indigènes, les poils rugueux tombant et laissant souvent de larges plaques dénudées, l'animal, qui présente l'aspect classique de la trypanosomiase, a la démarche lente, raide et difficile. Il butte. Chancelant, il peut même flageoler sur les jambes et tomber sur le côté en marchant. Il a de la paralysie du train postérieur et traîne à terre les jambes de derrière. A la moindre pression sur la région lombaire, il s'effondre. Nous avons noté chez les chevaux de la flexion des boulets, de l'usure du rebord antérieur des sabots et de la faiblesse des reins. Ils supportent mal le poids du cavalier qui sent sa monture s'affaisser sous lui.

Atteint de constipation ou de diarrhée, l'animal trypanosomé offre très souvent des tares ophtalmiques, de l'opacité des cornées, de l'amaurose, parfois du larmoiement et de l'écoulement du nez, et l'œdème du ventre et des testicules.

Véritable épouvantail, couvert de plaies, la crinière et la queue dénudées, réduit à l'état de squelette ambulant, il peut présenter un aspect repoussant.

Il est difficile de déterminer exactement la période d'incubation et, dans les troupeaux de bœufs ou de moutons, on trouve le trypanosome chez des animaux que rien ne permettait de soupçonner. Leur appétit étant conservé jusqu'au dernier moment, aucun symptôme ne vient avertir l'observateur qui pourrait noter tout au plus, avec un peu d'attention, un commencement d'amaigrissement. Il existe une période latente variable non seulement avec la résistance des bêtes, mais aussi avec les mode d'infection qui doivent être plus ou moins sévères. L'hyperthermie est presque de règle à l'approche de la mort qui peut survenir très brusquement, alors que, la veille, l'animal paraissait plein de vie et de gaîté. Celui-ci tombe tout-à-coup sur le flanc, la respiration haletante, le corps agité de soubresauts et de tremblements. Il meurt en quelques heures, en un jour, souvent en hypothermie.

Les trypanosomes peuvent disparaître au cours de la maladie et, de l'absence de parasites la veille du décès, il ne faut pas rejeter l'idée de trypanosomiase.

La maladie est presque toujours mortelle. Cependant nous avons très souvent constaté de sérieuses améliorations chez des animaux suivis pendant dix mois et les indigènes en plusieurs

régions nous ont rapporté des cas de guérisons. Personnellement, nous pouvons citer les deux observations suivantes :

1° Une chienne, née sur les bords du Niger à Trikiri le 23 décembre 1904, examinée par nous en novembre 1905, se trouve, en décembre 1906, en parfaite santé. Elle a superbe allure et son maître, un Européen, nous a adressé à plusieurs reprises des plaques de sang dans lesquelles nous n'avons jamais rien remarqué. Or, quand nous avons eu l'occasion de voir la chienne à Kouroussa, elle était très amaigrie et ne pouvait faire plus d'une dizaine de pas sans tomber. Elle se relevait pour tomber un peu plus loin. La faiblesse du train postérieur était grande. Les poils s'arrachaient facilement. Les trypanosomes étaient assez rares dans le sang. L'animal a repris ensuite sa démarche ordinaire et petit à petit a recouvré ses forces et sa vigueur. Elle a supporté assez difficilement à l'aller le voyage de 350 kilomètres de Kouroussa à Beyla, plus facilement au retour ;

2° Un cheval de Kollangui, venant de Ségou, trouvé très infecté en juillet 1905, nous est signalé en fin de 1906 comme parfaitement guéri, alerte et vigoureux. La colonne vertébrale n'est plus saillante, l'œdème des jambes a disparu. La bête supporte bien le poids de son cavalier.

Ces animaux paraissant guéris ne sont pas à l'abri d'une rechute. Ils n'ont pas acquis l'immunité.

Nous avions ramené avec nous, de Guinée, un *bouc*, trypanosomé naturellement. Il était guéri, puisqu'une chienne ne s'est pas infectée après avoir reçu 20 c. c. de sang du bouc (25 avril), puis, un mois après, 15 c. c. (26 mai). Or, ce bouc, inoculé le 26 mai 1906 avec 1 c. c. de sang d'un cobaye infecté de notre trypanosome du chien de Guinée (selon toute vraisemblance, identique à celui du bouc), contracte une nouvelle infection (parasites présents dans le sang, à l'examen microscopique, durant quelques jours, en juin ; souris infectée avec 1/4 de c. c. de ce sang) qui dure au moins 3 mois.

M. Mesnil, à qui nous confions notre animal en quittant Paris, le considère de nouveau comme guéri à la fin de 1906 (plusieurs inoculations négatives aux cobayes) et il le réinocule le 17 janvier 1907 avec du sang d'une souris infectée avec notre trypanosome du porc de Guinée (identique morphologiquement

à ceux du bouc et du chien). Le bouc s'infecte encore : les examens microscopiques ont été négatifs, mais une souris, sur deux inoculées le 29 janvier avec 1/4 c. c. du sang du bouc, s'infecte; deux souris, faites le 9 mars, chacune avec 1/4 c. c., s'infectent également.

Une *chèvre*, témoin du bouc, inoculée à l'Institut Pasteur le 26 mai 1906, avec le même virus que le bouc, s'infecte comme lui (trypanosomes présents à plusieurs reprises, à l'examen microscopique, en juin ; souris infectées avec 1/4 c. c. du sang en juin, juillet et août).

A la fin de 1906, M. Mesnil, ayant fait plusieurs inoculations négatives aux cobayes, considère la chèvre comme guérie; il l'inocule, le 17 janvier 1907, dans les mêmes conditions que le bouc. La chèvre contracte une infection subaigüe. Deux souris inoculées le 29 janvier avec 1/4 c. c. s'infectent; le 11 février, la chèvre est malade, l'examen de son sang est négatif; le 12 elle est mourante, son sang renferme de nombreux trypanosomes du type *dimorphon*; elle meurt dans la nuit du 12 au 13 février avec les lésions ordinaires des trypanosomiases.

Nous reviendrons sur ces faits dans le chapitre suivant en traitant la comparaison de notre trypanosome avec le *dimorphon*. Rappelons simplement que Thomas et Breinl, à Liverpool, ont observé des faits semblables avec le *dimorphon*. Un mouton paraissant guéri, a contracté une nouvelle infection et y a succombé.

Les indigènes, en Guinée, nous ont souvent raconté que des animaux malades, puis guéris, pouvaient très bien périr lors d'une seconde atteinte de la maladie.

Dans ces cas, les trypanosomes reparaissent sous l'influence d'une nouvelle infection. Peut-être dans certains cas, existent-ils à l'état plus ou moins latent et acquièrent-ils chez des animaux surmenés, mal nourris, une exaltation de virulence.

L'observation suivante rentre dans le même ordre d'idées.

Nous avions ramené de Guinée un mouton trypanosomé et paraissant guéri, lorsqu'une atteinte de clavelée, venant réveiller son infection, a fait réapparaître dans son sang des parasites en nombre assez considérable.

Ce mouton, infecté expérimentalement de « trypanosome du mouton », très probablement de *T. dimorphon*, avait montré en

février 1906, pendant notre séjour à Conakry, des parasites assez nombreux.

30 janvier	Inoculation
4, 7 février	0 tryp.
14	Rares
15, 16, 17	Rares
18, 20	Assez nombreux
21, 22	Assez nombreux

A Paris il est examiné très régulièrement en mars, avril, mai, tous les deux ou trois jours. On ne voit rien dans le sang.

L'animal était toujours infecté puisqu'un cobaye, inoculé avec 5 c. c. de son sang le 29 mars, montre 21 jours après (19 avril) des trypanosomes d'abord très rares, puis assez nombreux les 23 et 30 avril. Le cobaye meurt du 3 au 4 mai en 35 jours.

Cependant un second cobaye auquel fut injecté, un mois après, le sang de ce même mouton, ne s'infecta pas.

Or, le mouton, le 9 juin, est atteint de clavelée. Les symptômes sont très nets. Il reçoit 100 c. c. de sérum anticlaveleux.

Le 11 juin, quelques trypanosomes rares sont vus dans le sang ;
Le 12 juin, ils sont assez nombreux ;
14, 15, 16, 19, ils sont nombreux ;
23, 25, assez nombreux ;
27, 29, ils ont disparu ;
3, 5 juillet, ils sont assez nombreux ;
7, très rares ;
9, 11 juillet, ils ont disparu.

Le mouton meurt le 12 juillet (rate hypertrophiée). Très probablement l'infection trypanosomiasique aura joué un rôle important, car deux autres moutons en expérience, non trypanosomés, qui sont atteints de clavelée, résistent à la maladie.

Les observations de MM. Nicolle et Adil-Bey[1] dans ce même ordre de faits sont bien connues. Quand on inocule du virus pestique pur à des animaux des steppes, ceux-ci peuvent résister à la peste bovine et montrer des parasites de la fièvre de Texas (piroplasmose bovine). Ce résultat, paradoxal en apparence, prouve que le virus pestique joue vis-à-vis du virus piroplasmique le rôle d'un véritable agent révélateur.

Les divers savants qui ont étudié la peste bovine dans l'Afrique australe ont signalé comme fréquente la présence du

1. Nicolle et Adil-Bey, *Ann. Inst. Past.*, avril 1899.

Piroplasma bigeminum dans le sang des animaux atteints de typhus contagieux naturel ou expérimental.

Memmo, Martoglio, Adani [1] ont été aussi amenés dans leurs études sur la peste bovine en Erythrée à étudier des infections du bétail souvent latentes et que font apparaître des attaques de peste bovine ou des inoculations de vaccin pestique. L'existence d'une trypanosomiase bovine a été ainsi reconnue.

Holmes, dans l'Inde [2], a observé, après inoculation de virus pestique, le réveil de cas latents, non seulement de piroplasmose, mais aussi de trypanosomiase, chez des bovidés de plaine ou de montagne alors que ces infections étaient tout à fait inconnues chez les bovidés des mêmes régions.

Theiler[3] mentionne, en dehors du *Piroplasma big.* et du *Tryp. theileri*, comme pouvant sans doute entraîner des mécomptes dans la préparation du sérum antipestique et dans son emploi, le trypanosome du Nagana.

Marchoux [4], au Sénégal, a fait reparaître des *Piroplasma canis* dans la circulation périphérique des chiens, en état d'infection latente, en provoquant la fièvre par un moyen quelconque.

III

Étude expérimentale des trypanosomiases de Guinée. Leur différenciation.

Il existe sans doute plusieurs trypanosomiases en Guinée, mais il nous paraît ressortir de nos diverses observations chez les animaux infectés spontanément et de l'étude des virus des races différentes chez des animaux de passage dont nous exposons les tableaux généalogiques, que nous avons surtout rencontré le *T. dimorphon*.

En effet, le parasite apparaît à l'état frais sous des formes de dimensions parfois fort inégales, tantôt agiles et vives, le

1. *Ann. Ig. sperim.* 1904 analysé in *Bulletin Inst. Pasteur* 1905 p. 73. *Ann. d'Ig. sperim.* 1905 analysé in *Bulletin Inst. Pasteur* 1905, p. 396.
2. Holmes, *Journal of comp. Path. a Therap.*, t. XVII, déc. 1904, analysé *in Bulletin Pasteur*, 1905, p. 119.
3. Theiler, *Monatshefte für prakt. Tierheilkunde*, t. XVI, 1904, analysé *in Bulletin*, 1905, p. 168.
4. Marchoux, *C. R. Soc. Biologie*, 27 janvier 1900.

plus souvent très peu mobiles, ne sortant pas du champ du microscope ou se déplaçant en se tortillant sur elles-mêmes, s'arrêtant brusquement et repartant de la même façon caractéristique. La membrane ondulante est peu apparente. Certaines formes allongées ont l'extrémité post-centrosomique terminée en pointe, d'autres l'ont arrondie comme toutes les formes courtes.

La tendance à s'agglutiner, dès que le sang d'un rat ou d'une souris qui en renferme beaucoup est mis entre lame et lamelle, est manifeste. Sur nos préparations colorées, on rencontre un grand nombre de trypanosomes associés par deux, mais les parties postérieures, au lieu de venir s'affronter par leur extrémité, comme c'est le cas des *Trypanosoma brucei* et *lewisi*, s'accolent latéralement et il y a contact sur une certaine longueur. Les centrosomes se trouvent souvent en regard.



Les parasites ont les uns de 13 à 15 μ, les autres 20 à 23 μ, quelques-uns 27 à 28 μ.



Fig. 4. — Infect. naturelle Tryp. du mouton (Kandiaï).

Sur les préparations colorées de sang d'animal inoculé avec les trypanosomes d'origines différentes, nous n'avons pas vu, d'accord avec Laveran et Mesnil [1], Thomas et Breinl [2], le long flagelle libre décrit par Dutton et Todd [3]. Le protoplasme du corps se continue le long du flagelle (v. fig. 6, p. 375). Aussi bien pour la forme allongée que pour la forme courte, la partie véritablement libre du flagelle est nulle ou rudimentaire et notre parasite est tout à fait comparable au *dimorphon*, type des laboratoires de l'École tropicale de Liverpool et de l'Institut Pasteur. Cependant dans le sang d'animaux infectés spontanément (mouton de Kandiaï, fig. 4), nous avons pu voir des parasites avec un long flagelle libre. Nous les avons même suivis pendant un certain temps chez des animaux d'expérience (fig. 5) [4].

1. *Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris. Masson. 1904.
2. *Liverpool School of Trop. Med.*, mem. XVI, 1905.
3. *Liverpool School of Trop. Med.*, mem. XI, 1903.
4. Dans ce dernier cas, ne pourrait-il pas s'agir du *Tr. pecaudi*, récemment décrit par Laveran?

Ces faits corroborent ceux de Dutton et Todd et montrent que ces formes à flagelle libre peuvent exister quelque temps, puis disparaître. Martini a observé des changements morphologiques de même ordre pour ses deux virus Nagana du Togo.

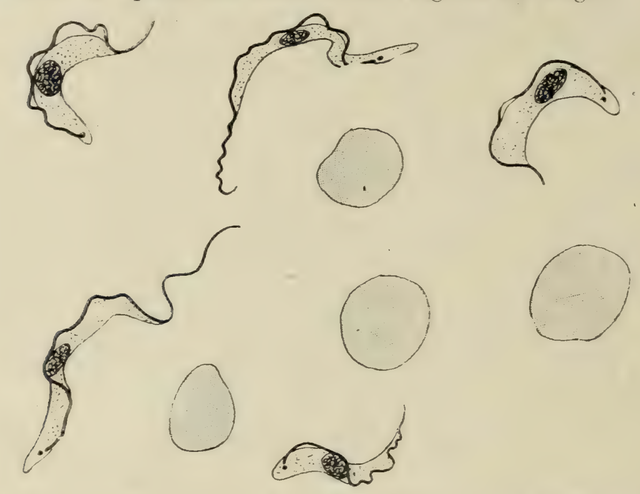


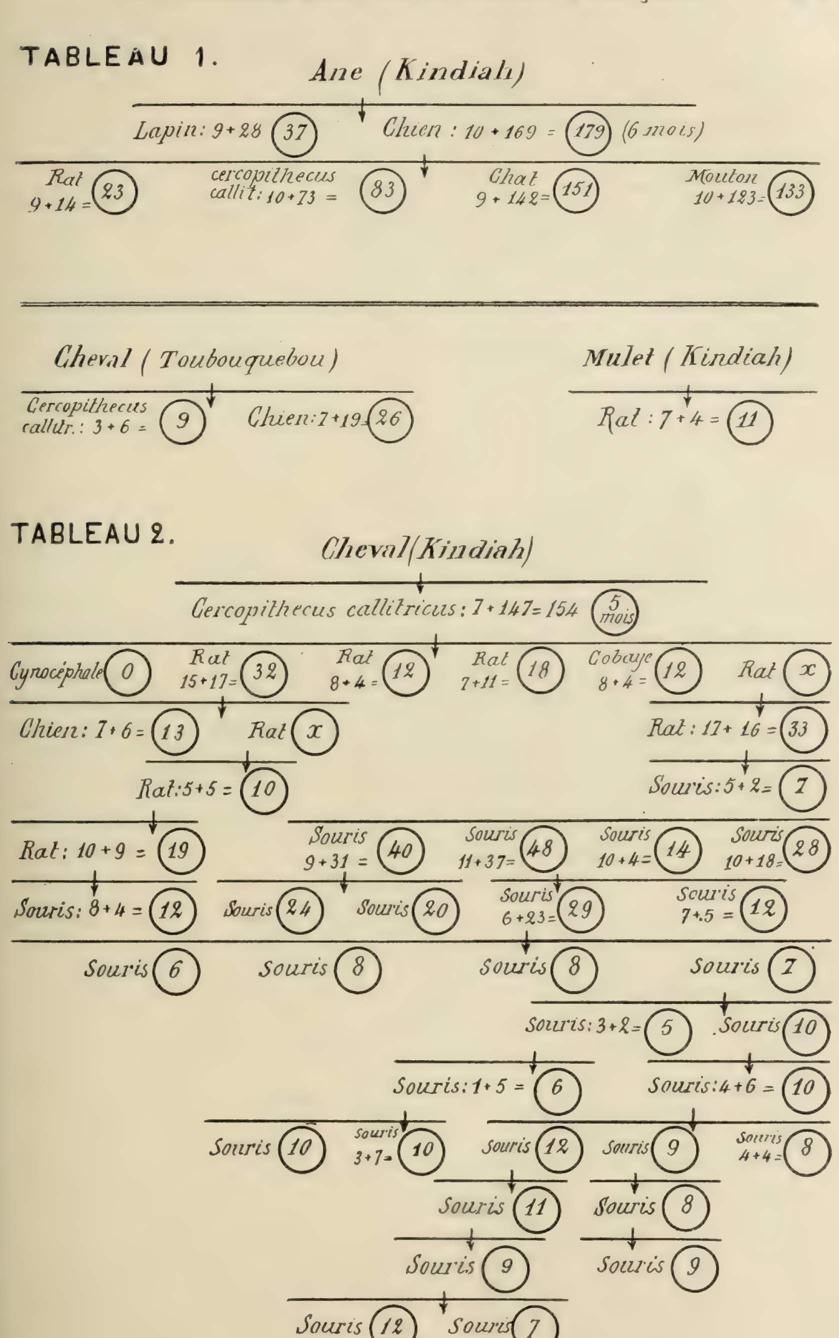
Fig. 5. — Trypanosome du mouton. (Passage chez le cobaye.)

Nous devons dire néanmoins que, dans la majorité des cas, notre trypanosome n'a présenté que des formes relativement courtes sans flagelle libre. Le fait est indubitable en particulier pour les mulets et bœufs observés en novembre 1906, au moment où notre attention était bien attirée sur ces particularités morphologiques (v. fig. 1 et 2, p. 359). De même, le trypanosome des bovidés du Dahomey, que nous rapportons aussi au *dimorphon*, n'a pas de formes à flagelle libre (v. fig. 10, p. 382).

Les chiens, les Ruminants, les Rongeurs sont sensibles à tous ces virus à formes petites, sans flagelle libre. Les Cynocéphales et les *Cercopithecus ruber* ont paru être réfractaires.

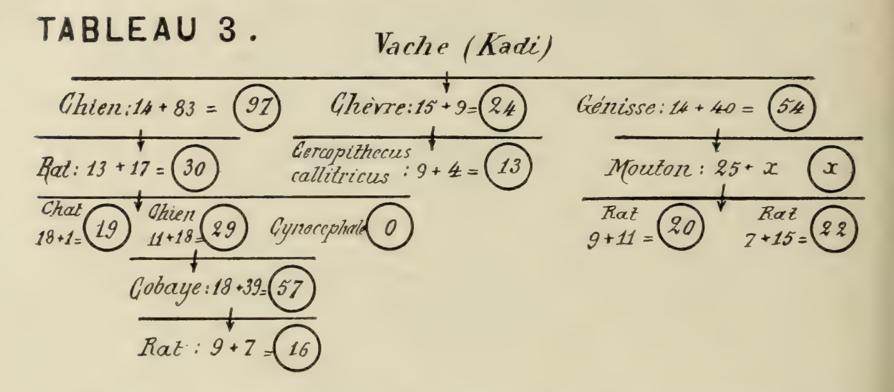
Les rats ont succombé, en une période variant de 11 à 32 jours, à l'infection produite par le Trypanosome rencontré chez le *cheval*. Les souris ont résisté 13 jours en moyenne. L'une d'elles a vécu 48 jours. Un chat est mort en 5 mois, un chien en 6 mois, un mouton en 4 mois, un lapin en 37 jours, un *Cercopithecus callitrichus* en 83 jours [1].

1. *Nota.* Les tableaux « généalogiques » qui vont suivre résument les passages effectués par nos divers virus à partir de la souche initiale. A côté du nom de l'espèce animale de passage, se trouvent généralement 3 chiffres : le 1er indique la durée de l'incubation, le 2e celui de l'infection sanguine, le 3e (enfermé dans un rond) est le total des deux ; il représente donc le temps qui s'écoule depuis le moment de l'inoculation jusqu'à la mort de l'animal.


TABLEAU 1.
Ane (Kindiah)
Lapin: 9+28 (37)
Chien : 10 + 169 = (179) (6 mois)
Rat 9+14= (23)
cercopithecus callit: 10+73 = (83)
Chat 9 + 142= (151)
Mouton 10+123= (133)
Cheval (Toubouquebou)
Cercopithecus callitr.: 3 + 6 = (9)
Chien: 7+19= (26)
Mulet (Kindiah)
Rat : 7 + 4 = (11)
TABLEAU 2.
Cheval (Kindiah)
Cercopithecus callitricus: 7 + 147= 154 (5 mois)
Cynocéphale (0)
Rat 15+17= (32)
Rat 8 + 4 = (12)
Rat 7+11 = (18)
Cobaye 8 + 4 = (12)
Rat (x)
Chien: 7 + 6 = (13)
Rat (x)
Rat : 17+ 16 = (33)
Rat: 5+5 = (10)
Souris: 5 + 2 = (7)
Rat: 10 + 9 = (19)
Souris 9 + 31 = (40)
Souris 11+37= (48)
Souris 10 + 4 = (14)
Souris 10+18= (28)
Souris: 8 + 4 = (12)
Souris (24)
Souris (20)
Souris 6 + 23 = (29)
Souris 7+5 = (12)
Souris (6)
Souris (8)
Souris (8)
Souris (7)
Souris: 3 + 2 = (5)
Souris (10)
Souris: 1 + 5 = (6)
Souris: 4 + 6 = (10)
Souris (10)
Souris 3+7= (10)
Souris (12)
Souris (9)
Souris 4+4= (8)
Souris (11)
Souris (8)
Souris (9)
Souris (9)
Souris (12)
Souris (7)

Au Trypanosome de *Bovidés*, les rats ont résisté 16, 22 et 30 jours; un chat 19 jours, un cobaye 57 jours, une génisse 54 jours, un chien plus de trois mois.

TABLEAU 3.



Deux cobayes ont résisté 46 jours à l'infection causée par le Trypanosome rencontré chez le chien. Les souris ont succombé en 6 jours, 18 et 26 jours, le *chien* en 11, 19 et 22 jours, un *Cercopithecus callitrichus* en 43 jours.

Le Tryp. du *porc* a amené la mort d'un *Cercopithecus callitrichus* en 86 jours, celle des rats en 25 et 28 jours, celle d'un cobaye en 39 jours, celle des souris en des périodes variant de 7 à 33 jours.

TABLEAU 4.

Porc

Chien : 5 + 9 = (14) jours

Cercopithecus callitrichus : 10 + 76 = (86) — Cercopithecus ruber (0)

Rat : 12 + 16 = (28) — Cobaye (0) — Rat (0)

Chien : 13 + 13 = (26) — Cobaye (39) — Rat (26) — Rat (0)

Souris (14) — Rat : 9 + 16 = (25)

Souris : 8 + 7 = (15) — Souris : 11 + 9 = (20) — Souris : 9 + 4 = (13)

Souris : 5 + 17 = (22) — Souris : 4 + 5 = (9)

Souris (10) — Souris : 5 + 20 = (25) — Souris : 5 + 28 = (33)

Souris (7) — Souris (10)

Souris (8)

Souris (8) — Souris (13)

Souris (9) — Souris (8)

Souris (7)

Souris (12) — Souris (7)

Souris (9)

Souris (9) — Souris (8)

Souris : 3 + 4 = (7) — Souris : 3 + 4 = (7)

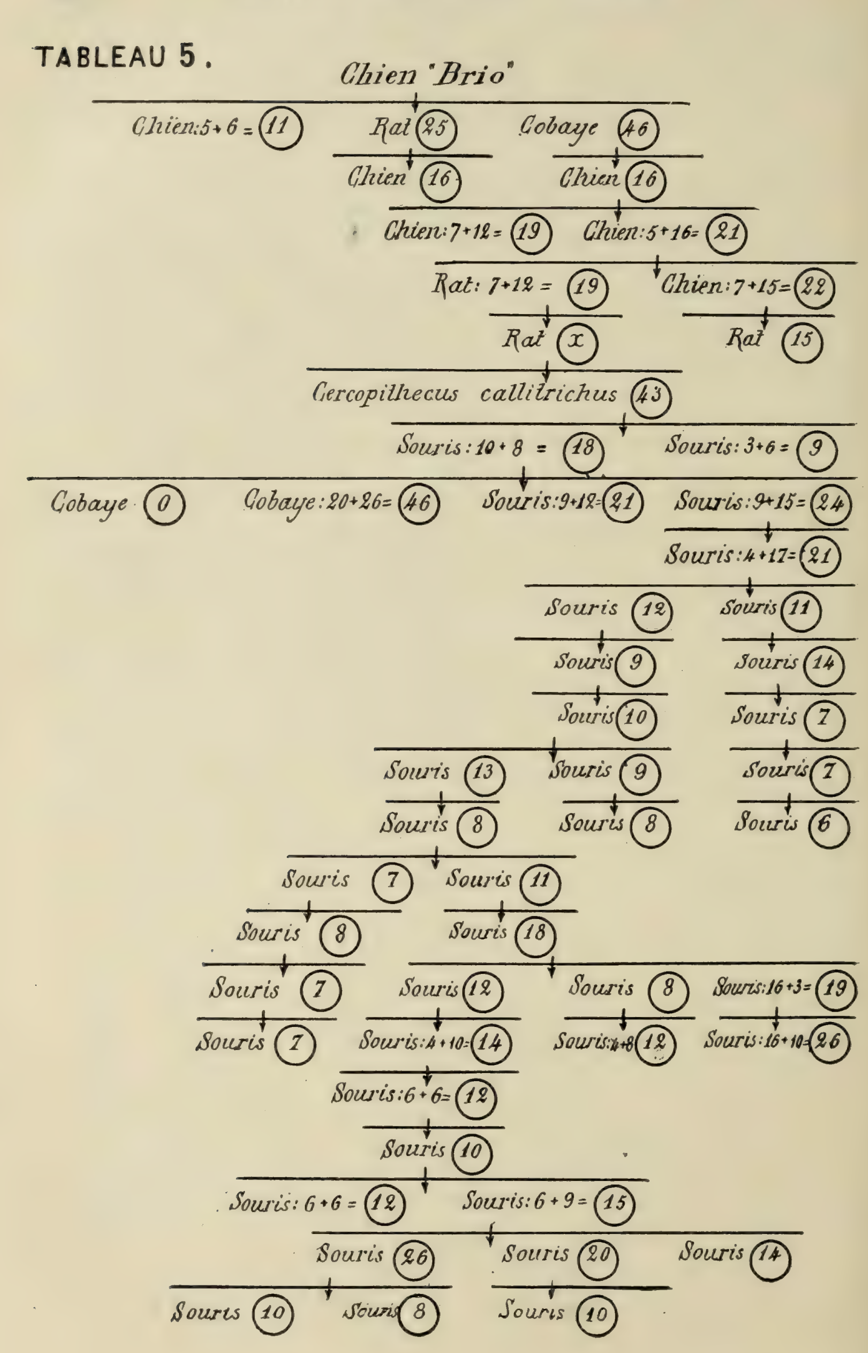
Souris : 7 + 4 = (11) — Souris : 6 + 13 = (19)

Souris (17) — Souris (7) — Souris (10)

Souris (9) — Souris (7) — Souris (9) — Souris (25) — Souris (9)

Souris (11) — Souris (25)

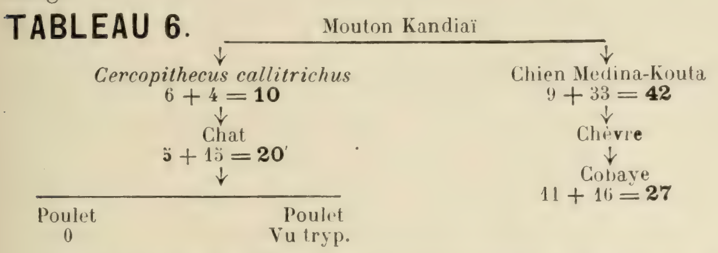
TABLEAU 5.



Chien "Brio"
Chien: 5 + 6 = 11
Rat 25
Cobaye 46
Chien 16
Chien 16
Chien: 7 + 12 = 19
Chien: 5 + 16 = 21
Rat: 7 + 12 = 19
Chien: 7 + 15 = 22
Rat x
Rat 15
Cercopithecus callitrichus 43
Souris: 10 + 8 = 18
Souris: 3 + 6 = 9
Cobaye 0
Cobaye: 20 + 26 = 46
Souris: 9 + 12 = 21
Souris: 9 + 15 = 24
Souris: 4 + 17 = 21
Souris 12
Souris 11
Souris 9
Souris 14
Souris 10
Souris 7
Souris 13
Souris 9
Souris 7
Souris 8
Souris 8
Souris 6
Souris 7
Souris 11
Souris 8
Souris 18
Souris 7
Souris 12
Souris 8
Souris: 16 + 3 = 19
Souris 7
Souris: 4 + 10 = 14
Souris: 4 + 8 = 12
Souris: 16 + 10 = 26
Souris: 6 + 6 = 12
Souris 10
Souris: 6 + 6 = 12
Souris: 6 + 9 = 15
Souris 26
Souris 20
Souris 14
Souris 10
Souris 8
Souris 10

Le Trypanosome du *mouton* a fait périr un *Cercopithecus callitrichus* en 10 jours, deux chiens en 30 et 42 jours, un chat en 23, deux cobayes en 27 et 35 jours, des souris en 4, 9, 28 et même 65 jours. Une poule a montré des parasites dans son sang.

TABLEAU 6.



Voici la généalogie des Trypanosomes d'un autre mouton.

TABLEAU 7.

Mouton

Rat : 11 + 17 = (28)

Rat : 5 + 9 = (14) — Chien : 5 + 25 = (30)

Mouton (x) — Rat : 8 + 15 = (23)

Cobaye : 21 + 14 = (35)

Souris : 9 + 14 = (23) — Souris : 7 + 2 = (9)

Souris : 8 + 5 = (13) — Souris : 10 + 5 = (15) — Souris (17)

Souris : 3 + 10 = (13)

Souris (65)

Souris (28) — Souris (9) — Souris (4) — Souris (28)

Souris (35) — Souris (9) — Souris (25) — Souris (17)

Souris : 4 + 17 = (21)

Souris (10)

Bref, après une incubation parfois assez longue et qui a atteint 20 et 21 jours chez le cobaye, 17 chez le rat, 11 et 16 jours chez la souris, nos différents virus ont déterminé chez

les animaux d'expérience, soit des maladies subaiguës, soit des maladies chroniques tout à fait comparables entre elles et ressemblant à celles observées avec le *Trypanosoma dimorphon.*

Nous pouvons résumer dans le tableau suivant les moyennes de résistance de nos animaux de passage à l'infection causée chez eux par l'inoculation de nos Trypanosomes provenant de différentes sources.

	SOURIS	RATS	COBAYES	CHIEN	Cercopith. callit.
Trypan. du porc	12 jours	26,5	39	20	86
— chien	12,5	20	46	17	43
— cheval	13	20,5	12	13	154
— âne		23		179	83
— mouton	19	21	35	30	
— bœuf		22	57	63	13

Ainsi, d'après la marche de la maladie expérimentale, d'après les caractères morphologiques de nos divers Trypanosomes, de leur comparaison avec le *dimorphon*, nous pensons avoir eu affaire, en Guinée française, au trypanosome découvert par Dutton et Todd en Gambie, il y a quatre ans.

Une vérification s'imposait : employer la méthode de différenciation par un animal guéri, conseillée dans ces cas par Laveran et Mesnil. Si elle n'a pas donné les résultats que nous attendions, elle n'en a pas moins fortifié notre conviction que nous avions bien à faire à du *dimorphon.*

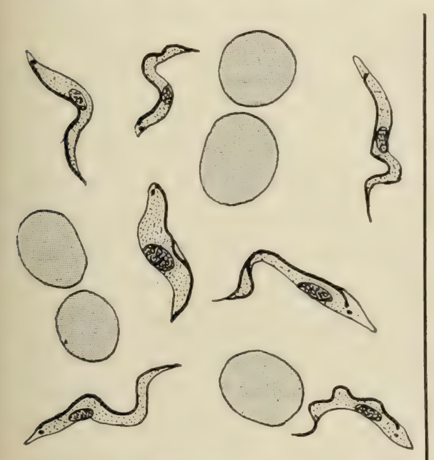
Nous avions ramené avec nous de Guinée un bouc et un mouton trypanosomés naturellement. Ils étaient guéris puisque 20 c. c. de leur sang une première fois, et 15 c. c. une seconde, à 1 mois d'intervalle, n'ont pas infesté des chiens suivis près de 3 mois très régulièrement. Le *bouc* a été inoculé le 26 mai 1906 avec 1 c. c. de sang d'un cobaye infecté avec notre Trypan. d'un chien de Guinée. Une *chèvre* de France lui sert de témoin.

L'histoire de ces deux caprins est relatée dans le chapitre précédent (v. p. 363-364).

Le *mouton* reçoit le même jour 1 c. c. de sang de souris infectée de *T. dimorphon* type.

Les 3 animaux s'infectent : des parasites sont vus à plusieurs reprises en juin (et même, chez le mouton, en juillet); des souris inoculées avec 1/4 de c. c. en juin, juillet et août s'infectent.

De l'examen des parasites à l'état frais, à l'état coloré, et soit chez le mouton et les caprins, soit chez les souris de passage, de leur comparaison entre eux, il est impossible d'établir des différences. Les figures 6 et 7 les mettent tous deux en parallèle.



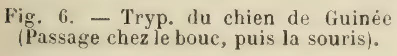


Fig. 6. — Tryp. du chien de Guinée (Passage chez le bouc, puis la souris).



Fig. 7. — *T. dimorphon* (Passage chez le mouton, puis la souris).

L'exemple du bouc prouve que nos animaux n'avaient pas l'immunité. Il n'y a donc rien de contraire à notre thèse : à ce que le mouton s'infecte après inoculation avec le *T. dimorphon*.

L'histoire ultérieure des 3 animaux, suivis, après notre départ de Paris, par M. Mesnil, n'est pas sans intérêt.

Nous avons déjà vu (p. 363-364) que le bouc et la chèvre ont paru guérir de leur infection et que, réinoculés une nouvelle fois avec un virus de Guinée, ils se sont réinfectés et que la chèvre a même succombé à sa seconde maladie.

Or, le mouton, qui paraissait également guéri (plusieurs

inoculations négatives aux cobayes), a été réinoculé, à la même date que les caprins, de nouveau avec le *T. dimorphon* type. Lui aussi s'est réinfecté; de rares Trypan. ont été vus à 2 reprises dans son sang; des souris, inoculées après 50 jours, avec 1/4 c. c. de son sang, ont contracté une infection.

Ainsi donc, chez les moutons et les chèvres, l'évolution de l'infection avec notre Trypan. de Guinée et avec le *dimorphon* est la même; dans les 2 cas, *la guérison ne confère pas l'immunité* [1].

Or, il résulte des nombreux travaux auxquels les divers Trypan. de Mammifères ont donné lieu, que cette non-immunité est une exception. Nous pensons donc que sa constatation constitue un argument de plus en faveur de l'identité du virus de Guinée et du *dimorphon*.

Cette identité admise, quelle est, d'après les faits connus à l'heure actuelle, l'extension géographique de l'infection à *T. dimorphon* dont l'existence a d'abord été reconnue en Gambie?

Dès 1904, M. Laveran constatait l'existence d'une Trypanosomiase des Équidés en Guinée française, et en 1905, décrivait le parasite trouvé dans le sang des chevaux de Toumanéa comme se rapprochant du *dimorphon* [2]. Cazalbou [3] a examiné des chevaux revenus du Haut-Niger (en Guinée) infectés de *T. dimorphon*.

Ce flagellé paraît avoir une étendue géographique très grande. Il existe en Gambie et dans le Haut-Niger. Thiroux et Teppaz [4] rapportent au *dimorphon* une Trypanosomiase des chevaux qu'ils ont observée au Sénégal à l'état endémique, sur la côte au sud de Dakar.

F. Smith [5] a trouvé à Sierra-Leone, dans le sang d'un bœuf abattu pour la consommation, un Trypan. qui, d'après Bruce,

1. Nous avons déjà rappelé (p. 364) que Thomas et Breinl ont vu de leur côté qu'un mouton, paraissant guéri du *dimorphon*, a contracté une nouvelle infection et a succombé.

2. Laveran, *C. R. Soc. Biologie*, 27 février 1904 et *C. R. Acad. Sciences*, 9 janvier 1905.

3. Cazalbou, *C. R. Soc. Biologie*, 4 mars 1905. — M. Laveran (*C. R. Acad. Sciences*, 9 juillet 1906) parlait d'un Trypanosome du mouton ayant de grandes analogies avec le *T. dimorphon* : le virus provenait d'une ânesse infectée spontanément à Garo, sur le Bani, gros affluent du Niger. L'étude ultérieure que Laveran a pu faire de ce Trypan. l'a amené (*C. R. Acad. Sciences*, 4 février 1907), à le considérer comme une espèce nouvelle qu'il a appelée *T. pecaudi*.

4. Thiroux et Teppaz. Ces *Annales*, mars 1907.

5. Smith. *Journ. R. army med. Corps*, t. III, 1904.

n'a que 13 μ de long. Dans ce cas encore, il nous semble qu'il y a lieu de songer à *T. dimorphon*.

Cette Trypanosomiase existe vraisemblablement sur toute la côte occidentale d'Afrique jusqu'au Cameroun; nous avons rencontré (v. l'appendice, p. 382) un Trypan. identique morphologiquement au *dimorphon* chez des bovidés originaires du Dahomey.

Il existe sans doute aussi dans le bassin du Chari. Sur des préparations du docteur Decorse, colorées par Laveran et Mesnil [1], le parasite n'avait pas de flagelle libre. Il était comparable au *dimorphon* de Gambie.

Parmi les Trypan. de Mammifères étudiés par la Commission de la maladie du sommeil dans l'Ouganda, il est à penser que l'un d'eux se rapporte au *T. dimorphon*. D'après Nabarro et Greig [2], ce serait le Trypan. des bovidés de Jinja (Usoga) qui, si l'on se reporte aux figures et aux descriptions des auteurs, rappelle en effet, par ses variétés de dimensions et de formes (flagelle nul, rudimentaire ou libre), le *dimorphon*. Greig et Gray [3] ne figurent que de longues formes avec flagelle libre et pensent qu'il s'agit du Nagana.

Le Trypanosome du mulet, étudié par les mêmes savants, montre aussi des formes de deux sortes (avec et sans flagelle libre); mais par la largeur des formes sans flagelle libre, on est plutôt amené à songer au *T. pecaudi* Laveran.

Nous avions, dans notre travail complet, émis la supposition que la Trypanosomiase des mulets du Bahr-el-Gazal, étudiée par Balfour [4] relève aussi du *dimorphon*. Dans sa note récente, Laveran pense qu'il s'agit du *T. pecaudi*.

Enfin, notons qu'il est fort probable que le *T. congolense* (caractérisé par des formes petites et minces, sans flagelle libre) et que Broden [5] a rencontré chez des moutons, bœufs, ânes et dromadaires, dans le bassin du Bas-Congo jusque dans le district de l'Équateur, soit identique au *dimorphon*.

Quoiqu'il en soit, on peut affirmer dès maintenant que l'aire de distribution géographique du *T. dimorphon* est très étendue

1. LAVERAN et MESNIL, *Op. cit.*, p. 114-115.
2. NABARRO et GREIG. *Sleeping Sickness Commission, Report* n° V.
3. GREIG et GRAY. *Sleeping Sickness Commission, Report* n° VI.
4. BALFOUR. *Journ. Path. a. Bact.*, t. XI, 1906.
5. BRODEN. *Bull. Acad. Roy. de Belgique*, 4e série, t. XX, 1906. — *Rapport sur les travaux du labor. de Léopoldville*, II, 1906.

et que cette trypanosomiase tient une place importante au moins dans les bassins de l'Afrique occidentale intertropicale.

*
* *

Ce n'est sans doute pas, d'ailleurs, la seule espèce qu'on rencontrerait en Guinée française.

On sait que Cazalbou a décrit trois trypanosomiases du Soudan français sous le nom de M'bori, de Soumaya et de Baléri.

MM. Laveran, Vallée et Panisset ont montré que la M'bori n'était qu'une variété du Surra [1] et Laveran a trouvé chez un mouton inoculé à Ségou avec le sang d'un cheval qui s'était infecté dans la région du Bani un trypanosome paraissant être celui de la Souma [2] et constituant une espèce nouvelle, le *T. cazalboui.*

Sa longueur (flagelle compris) est de 21 μ, sa largeur de 1 μ 5. La membrane ondulante est très peu développée, elle est bordée par le flagelle qui a une portion libre, Le noyau est situé vers la partie moyenne, et le centrosome est rapproché de l'extrémité postérieure arrondie. Ce trypanosome, au point de vue de l'action pathogène sur les différentes espèces animales, se distingue nettement des espèces voisines. Les petits Ruminants s'infectent facilement, tandis que les inoculations faites chez les Rongeurs (souris, rats, cobayes) et chez le chien restent ordinairement sans effet. Le *Macina* paraît être le principal foyer de la Souma qui a été observée également à Bamako et à Kati (3).

Or, en Guinée, si une grande partie de la colonie et principalement les régions de Boké, Kadé, de la basse Guinée, s'alimentent en chevaux au Sénégal; le Bélédougou, centre d'élevage au N.-O. de Bamako, fournit la haute Guinée et même certains cercles du Fouta. Dans toute la vallée du Niger, les troupeaux de bœufs à bosse, bœufs porteurs, venant du Macina, font l'objet tous les ans, de novembre à mai, d'un grand commerce. Beaucoup de ces bêtes sont trypanosomées et peut-être faut-il incriminer le *T. cazalboui.*

1. Vallée et Panisset, avec observations de Laveran, *C. R. Acad. Sciences,* 21 nov, 1904; Laveran. *C. R. Acad. Sciences,* 29 décembre 1905.
2. Laveran, *C. R. Acad. Sc.*, 9 juillet 1906.
3. Cazalbou, *Soc. Biol.*. 1er avril 1905; Pécaud, *Soc. Biol.*, 13 janvier 1906.

En effet, 1° à Kollangui, le sang d'un cheval venant de Ségou et contenant de nombreux parasites assez longs et assez agiles, n'infecte ni un rat blanc, ni un chien, le premier examiné pendant un mois, le second pendant trois mois ;

2° A Kouroussa, nous ne réussissons pas à infecter deux chiens, le premier avec du sang très parasité d'un cheval venu du Mossi et de Bamako, le second avec le sang d'un âne arrivé du Sahel il y a un mois ;

3° A Siguiri, un jeune chien reçoit, sans résultat, 2 c. c. de sang d'un bœuf à bosse acheté dans le Guimbala au delà du Macina. Le bœuf est amaigri, malade et très trypanosomé ;

4° A Kouroussa, une vache née dans ce poste il y a sept ans, présente l'aspect classique des bêtes trypasonomées. Son sang contient de nombreux parasites très agiles. Il n'infecte pas cependant à la dose de 1 c. c. 1/2 ni un rat ni un cobaye.

A l'état frais, nous avions été frappé de l'agilité plus grande de ce trypanosome. A l'état coloré, il a l'aspect des figures

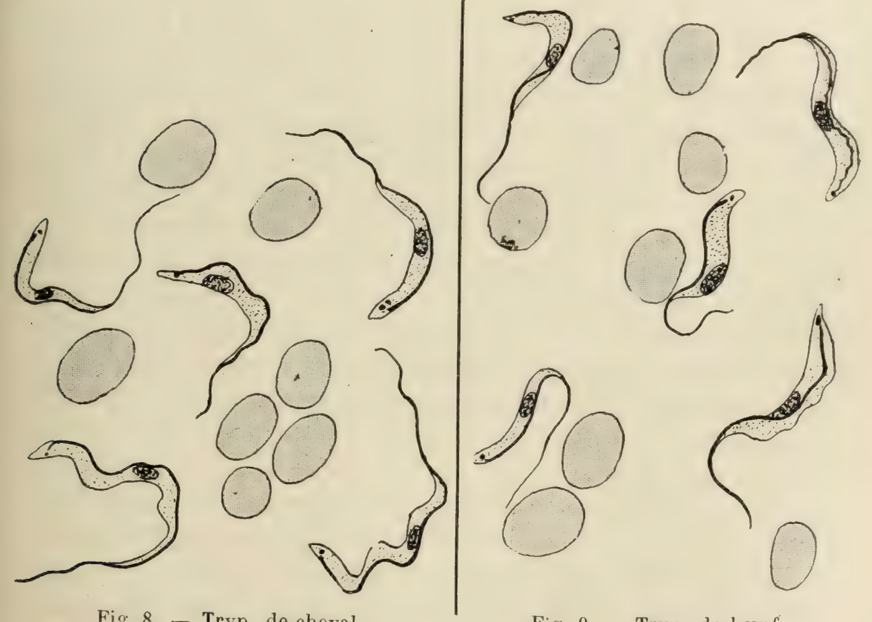


Fig. 8. — Tryp. de cheval.

Fig. 9. — Tryp. de bœuf.

8 et 9. Chez le cheval, le flagelle libre mesure 6 à 7 μ 5, la longueur totale atteint 26 μ à 28 μ.

Chez le bœuf, le flagelle libre a de 6 à 8 μ et la longueur totale mesure 22 μ à 28 μ.

Il y aurait donc lieu de conclure à l'existence en Guinée d'au moins deux trypanosomiases; l'une, la plus importante, causée par le *T. dimorphon* que nous avons rencontré, non seulement dans le sang des Equidés et des Bovidés, mais aussi très probablement dans celui des moutons, des chiens et du porc; l'autre sévissant surtout dans la région du Niger, chez les Equidés et les Bovidés importés du Belédougou et du Macina et pour laquelle il faudrait incriminer le *T. cazalboui*. Notons que dans le cercle de Farana, les Dialonkés désignent sous le nom de « Souma » l'infection trypanosomique de leurs chevaux.

M. le professeur Laveran, que nous remercions de ses excellents conseils et auquel nous avons fait part des conclusions précédentes, serait aussi de cet avis.

Il est impossible de tracer une aire exacte des régions infectées par l'un ou l'autre trypanosome.

Si le *T. dimorphon* est peut-être le seul qu'il faille incriminer dans le centre de la colonie et sur le littoral, le *T. cazalboui* est certainement fréquent sur les rives du Niger, mais tous deux doivent exister parallèlement en certaines contrées. Peut-être même certains animaux présentent une infection double.

***

Notons qu'une seule fois, à Kankaya, nous avons observé un *Trypanosome géant*, très long, à membrane ondulante très active et qui cependant se déplaçait très lentement, glissant entre les globules sans les déplacer, à la manière d'un spirille. Le flagelle était très développé. Nous n'avons vu qu'un seul trypanosome dans plusieurs préparations, Le sang de la vache trypanosomée a été injecté sans résultat à un lapin, à un cobaye et à un rat.

Il y a lieu de penser au *Trypanosoma theileri*, découvert chez les bovidés de l'Afrique du Sud par Theiler, et étudié par ce savant, Laveran et Bruce; on a signalé une espèce identique ou au moins très voisine au Togo (Schilling), en Afrique orientale allemande (Panse), aux Indes (Lingard, Holmes), en Transcaucasie (Lühe, Luhs). Rien d'étonnant à ce qu'elle existe aussi en Guinée.

IV

Mouches piquantes de Guinée

Les Trypanosomiases sont propagées principalement par les mouches piquantes. Si celles-ci ne sont que de simples vecteurs de virus, il est possible qu'on doive incriminer non seulement les tsétsés et les taons, mais aussi les hippobosques. Ceux-ci sont très nombreux en Haute-Guinée (Bissikirima, Siguiri, Kouroussa, Medina-Kouta).

Les Tabanides, déjà signalés au Rio Nunez et à Boké par M. Laveran (*Tabanus unilineatus*, *T. tæniola*, *T. ditæniatus*, *plato*) ainsi qu'à Dinguiray, ont été rencontrés en grand nombre par nous dans la région de Toumanéa et sur les rives du Niger, aussi bien des *Tabanus* que des Hématopotes et des Chrysopides.

Quant aux Glossines elles sont partout très abondantes. La *G. tachinoïdes*, la *G. longipalpis* et la *G. fusca* ont été trouvées au Rio-Nunez et à Boké, mais ce sont surtout la *G. palpalis* et la *G. morsitans* qui sont répandues. Nous n'avons vu ni *G. fusca* ni *G. palpalis* dans la Fouta-Djalon, le Labé ni sur les bords du Niger.

On sait que les carnivores peuvent s'infecter en mangeant des animaux morts de Surra, s'ils ont des érosions ou des plaies de la peau ou de la muqueuse buccale. Steel a constaté qu'un jeune chien nourri de viande de mule morte de Surra avait treize jours après des parasites dans le sang. Lingard a rapporté que des chiens de chasse mordus par une hyène tombèrent malades. A Maurice, des chiens s'infectèrent en buvant le sang des bœufs qu'on saignait. Il était facile de remarquer en leur palais de légères érosions. Lignières[1] a bien mis en évidence la contagion du Nagana par morsure. La présence du trypanosome dans la salive paraît bien liée à celle du sang. En Guinée, nous avons vu presque tous les chiens, porteurs aux oreilles de plaies sanguinolentes entretenues par les grattages de l'animal et par les écorchures produites dans la brousse épineuse. De nombreuses mouches venaient s'y poser et pou-

1. Lignières. Les maladies tropicales des animaux domestiques. Rapport présenté à la Sect. Path., VIII[e] Congrès intern. de médecine vétérinaire, Budapest, sept. 1905, analysé *in Bulletin Inst. Pasteur*, tome III, p. 946. *Bull.* et mém. *Soc. centr. vétér.*, t. LXXXIII, 30 juin 1906.

vaient aller ensuite déposer le virus sur une plaie semblable d'un autre animal. Les chiens, même en jouant ou en se léchant et se mordillant entre eux, pourraient peut-être s'infecter ainsi au moment où leurs gencives devaient saigner et donneraient l'explication de trois cas de trypanosomiase naturelle, observés chez les chiens dans le poste de Kouroussa.

APPENDICE

Trypanosomiase des bœufs du Dahomey

Le 11 décembre 1906, sept bœufs étaient embarqués à Cotonou (Dahomey), à bord du paquebot des Chargeurs Réunis *le Paraguay*, à destination de Libreville, où nous avions pris passage.

Leur sang, examiné à l'état frais, permet de découvrir chez quatre d'entre eux d'assez nombreux trypanosomes rappelant le *T. dimorphon*. Sur préparation colorée, ils ont l'aspect r epr senté figure 10.



Fig. 10.

Un *cobaye* inoculé le 12 décembre avec du sang d'un des bœufs parasités meurt le 22 décembre avec des trypanosomes non rares dans le sang. Une souris, inoculée avec le sang de ce cobaye, montre 8 jours après des trypan. assez nombreux (v. fig. 11.)

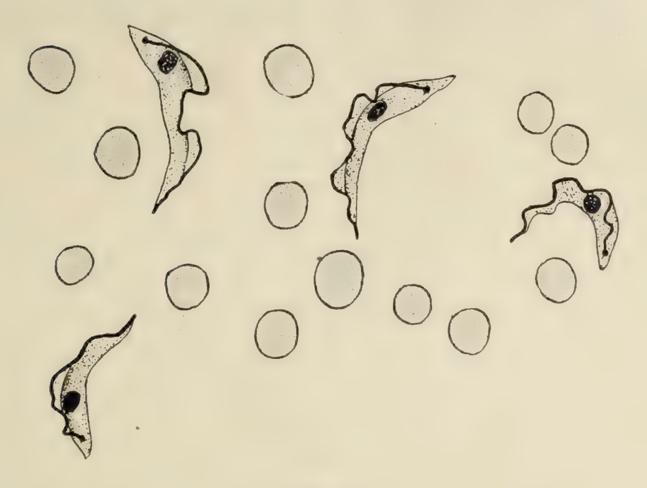


Fig. 11.

C'est la première fois que, à notre connaissance, on signale une trypanosomiase au Dahomey. Le *T. dimorphon* paraît très répandu sur toute la côte occidentale d'Afrique.

DU MÉCANISME DE L'ANTI-ANAPHYLAXIE

Par A. BESREDKA et Edna STEINHARDT

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff à l'Institut Pasteur et de Health Board, à New-York.)

Dans notre précédent mémoire[1] nous avons insisté sur les divers moyens de vaccination contre les accidents de l'anaphylaxie; nous avons montré, entre autres, que par une seule injection de 5 c. c. de sérum normal dans le péritoine de cobaye sensibilisé, on le préserve à coup sûr et presque instantanément contre l'injection mortelle (1/4 c. c.) de sérum dans le cerveau.

Cette immunité est-elle comparable à celle que confèrent les sérums spécifiques contre les microbes ou toxines?

Déjà les faits exposés dans notre premier travail faisaient prévoir qu'il s'agit d'un phénomène bien différent.

Qu'un sérum injecté dans le péritoine puisse protéger contre une inoculation cérébrale, cela ne s'est jamais vu avec aucun des sérums soit antimicrobiens, soit antitoxiques,

Il ne s'est jamais vu non plus que, par une injection préalable de sérum dans le cerveau d'un cobaye encore insuffisamment anaphylactisé, on puisse vacciner ce cobaye contre tous les accidents d'anaphylaxie à venir.

Il y a là évidemment autre chose qu'une immunité passive, banale.

De nouveaux faits observés depuis nous ont confirmés dans cette idée et nous ont permis d'entrevoir l'explication de cette immunité anti-anaphylactique.

***

On sait que l'immunité qui est conférée par un sérum spécifique est très passagère : elle dure le temps qu'il faut pour que le sérum ait le temps de s'éliminer de l'organisme ; après 10-15 jours on ne retrouve plus, généralement, trace d'immunité passive.

Les choses se passent tout autrement lorsqu'on vaccine les cobayes sensibilisés, en leur injectant du sérum (5 c. c.) dans le péritoine. Dans ce cas, l'immunité persiste pendant des mois :

1. *Ces Annales*, t. XXI, février 1907, p. 117-127.

nous avons eu des cobayes qui se montrèrent anti-anaphylactiques encore 3 mois après l'injection vaccinante du sérum, et il y a tout lieu de croire que cette immunité peut durer pendant un temps encore beaucoup plus long.

Cinq cobayes, sensibilisés par un mélange de toxine et d'antitoxine diphtériques, ont reçu dans le péritoine 4 injections de sérum (4-5 c. c.), à 8 jours d'intervalle. Le 12 décembre 1906, on leur injecta la dernière fois, à chacun d'eux, 5 c. c. de sérum dans le péritoine.

Depuis, à des intervalles déterminés, on les a soumis à l'épreuve intracérébrale (1/4 c. c.). Un des cobayes fut éprouvé le 12 janvier; deux autres le 12 février; enfin, les deux derniers cobayes furent injectés dans le cerveau le 13 mars, c'est-à-dire 3 mois après la vaccination.

Tous ces cobayes subirent très bien l'épreuve intracérébrale, sans présenter le moindre symptôme d'anaphylaxie.

De même, l'immunité persiste pendant un temps très long chez les cobayes vaccinés par la voie cérébrale.

Il y a deux manières de vacciner par la voie cérébrale : une consiste à injecter dans le cerveau 1/4 c. c. de sérum pendant la période latente de 10-12 jours, au bout de laquelle le cobaye devient sensibilisé.

A côté de ce mode de vaccination dont il a été déjà question dans le premier mémoire, il y en a encore un autre.

Celui-ci consiste à vacciner des cobayes après l'expiration de 10-12 jours, c'est-à-dire à un moment où ils sont déjà en pleine puissance d'anaphylaxie.

L'expérience nous a montré que lorsque à ce moment-là on injecte dans le cerveau une dose minime de sérum — 1/40 à 1/400 c. c. — on ne détermine chez le cobaye sensibilisé aucun symptôme morbide ; mais ce qui est plus, c'est que cette faible dose de sérum, loin d'être meurtrière, possède une vertu immunisante. Comme toutes celles que nous avons déjà étudiées jusqu'à présent, cette immunité présente également ceci de particulier qu'elle s'établit presque d'emblée et dure un temps très long.

Ainsi, nous avons eu des cobayes qui, ayant reçu 1/40-1/400 c. c. de sérum dans le cerveau en pleine période d'anaphylaxie, ont pu supporter, déjà une 1/2 heure après, 1/4 c. c. de sérum, soit une dose sûrement fatale. Dans certains cas cependant, par suite, probablement, du traumatisme cérébral,

les cobayes ainsi vaccinés se montrent réfractaires, seulement à partir du lendemain.

Faisons observer en passant que l'immunisation par de faibles doses de sérum est en soi-même un fait très suggestif; cela nous montre que le sérum injecté détermine la mort ou l'immunité suivant la dose employée. Ainsi, le même sérum porté dans le cerveau de deux cobayes identiquement sensibilisés tue l'un et immunise l'autre, et cela à peu près instantanément, suivant que la dose est de 1/4 ou de 1/40 c. c.

De tout ce qui précède, il résulte que, quel que soit le mode de vaccination, qu'on l'obtienne par la voie péritonéale ou par la voie cérébrale, que cela soit en pleine anaphylaxie ou avant que celle-ci ne s'établisse, l'immunité anti-anaphylactique dure beaucoup plus longtemps que l'immunité passive, antimicrobienne ou antitoxique.

*
* *

Nous nous sommes dès lors demandés si cette immunité anti-anaphylactique ne serait pas tout simplement due au retour du cobaye sensibilisé à l'état normal; en d'autres termes, si cette vaccination ne serait pas autre chose qu'une *désensibilisation*.

On comprendrait alors tous les phénomènes qui se rattachent à l'antianaphylaxie, et on s'expliquerait en particulier cette longue immunité, laquelle ne serait, somme toute, que l'immunité naturelle de cobayes redevenus normaux.

Voici comment nous nous représentons, d'une manière très générale, le mécanisme de l'anaphylaxie et l'anti-anaphylaxie.

Sous l'influence d'une très faible dose de sérum normal, injectée sous la peau, ou d'un mélange neutre de sérum antidiphtérique et de toxine, le cobaye élabore, et cela pendant dix jours au moins, une substance nouvelle, *une sensibilisine*, laquelle se fixe sur les cellules du cerveau. Tant qu'on n'injecte plus de sérum au cobaye, les cellules cérébrales gardent l'empreinte de la sensibilisine sans aucun symptôme apparent.

Dès que l'on fait pénétrer dans le cerveau d'emblée une forte dose de sérum (1/4 c. c.), il se produit une *désensibilisation brusque* qui se traduit par des phénomènes anaphylactiques graves et la mort; mais, lorsqu'on dépose dans le cerveau une faible dose de sérum (1/40-1/400 c. c.) ou que l'on y fait arriver du sérum peu

à peu du péritoine (5 c. c.), les cellules du cerveau *se désensibilisent progressivement* et récupèrent leur virginité primitive.

Il se passerait dans ce dernier cas ce que l'un de nous a observé pour le cerveau tétanique [1]. Nous savons que le cerveau de cobaye fixe la toxine tétanique, et qu'il peut en fixer *in vitro* beaucoup plus qu'il n'est capable d'en neutraliser. On peut obtenir ainsi facilement un cerveau saturé de toxine et donnant le tétanos à l'animal, à très faible dose. Or, rien n'est plus facile que de laver un pareil cerveau de sa toxine : il suffit pour cela d'ajouter un peu de sérum antitétanique : le cerveau ainsi traité se comporte ensuite comme un cerveau neuf; non seulement il devient inoffensif, mais il est encore capable de fixer une nouvelle quantité de toxine tétanique. En un mot, sous l'influence du sérum, le cerveau tétanique se *désintoxique* et redevient normal.

Si l'anti-anaphylaxie est due à la désensibilisation, et si un cobaye anti-anaphylactique est un cobaye qui est devenu normal, on doit pouvoir le résensibiliser tout comme un cobaye neuf.

C'est ce qui se produit en réalité, comme cela résulte de l'expérience suivante :

a) Deux cobayes *sensibilisés* (mélange de toxine + 1/170 c. c. d'antitoxine diphtérique) le 7 février, sont *vaccinés* le 15 février avec 4 c. c. de sérum (antistreptococcique) dans le péritoine.

Le 24 février on les *résensibilise* (toxine + 1/170 c. c. de sérum antidiphtérique). Le 9 mars, on les éprouve avec 1/4 c. c. de sérum dans le cerveau. Un de ces cobayes meurt après 3 minutes au milieu des symptômes caractéristiques; l'autre présente des phénomènes très graves d'anaphylaxie; il se rétablit un peu; on le trouve mort le lendemain matin.

b) Deux cobayes témoins, *sensibilisés* le 7 février comme les deux premiers, puis *vaccinés* le 15 février, mais non résensibilisés, furent éprouvés, en même temps que les précédents, le 9 mars. Ils ont été un peu incommodés après l'injection, mais n'ont présenté aucun symptôme caractéristique.

c) Deux cobayes témoins, *sensibilisés* le 7 février, non vaccinés et non résensibilisés, puis éprouvés le 9 mars en même temps que les quatre précédents, moururent en quelques minutes.

Il ressort donc nettement de cette expérience que des cobayes sont susceptibles d'être résensibilisés, quoique ayant été vaccinés par la voie péritonéale et ayant, par ce fait, acquis une immunité pour un temps indéterminé.

La vaccination des cobayes anaphylactisés produit donc

1. Ces *Annales*, t. XVII, 1903, p. 138.

in vivo le même effet que l'addition de sérum antitétanique *in vitro*, à un cerveau saturé de toxine.

En d'autres termes, la vaccination n'est qu'une désensibilisation ou une sorte de décoloration et l'état anti-anaphylactique n'est qu'un retour à l'état normal.

***

Cette conclusion s'impose d'autant plus que la résensibilisation réussit parfaitement bien non seulement chez les cobayes vaccinés par la voie péritonéale, mais encore chez ceux qui ont été vaccinés par la voie cérébrale.

De plus, tout comme pour le cerveau saturé de toxine [1], on arrive à désensibiliser une seconde fois des cobayes qui ont été déjà resensibilisés, et cela en leur injectant une dose non mortelle de sérum dans le cerveau.

Lorsque, plus tard, à des cobayes ainsi traités on réinjecte sous la peau un mélange neutre de toxine diphtérique et de sérum, on constate que les cobayes redeviennent de nouveau sensibilisés; ainsi, dans une de nos expériences, nous avons réussi à sensibiliser et à désensibiliser un cobaye (voir plus bas n° 42) trois fois de suite.

Cobaye n° 62; 7 février, *sensibilisé* (6.5 c. c. de toxine diphtérique à 1/10 + 1/175 c. c. de sérum antidiphtérique); 11 mars, injecté dans le cerveau avec 1/20 c. c. de sérum antidiphtérique allemand; très malade, mais se rétablit; 29 mars, *résensibilisé* (toxine diphtérique + 1/175 c. c. de sérum); 18 avril, épreuve intracérébrale (1/4 c. c.); symptômes caractéristiques d'anaphylaxie et mort après 5 minutes.

Cobaye n° 25; 31 janvier, *sensibilisé* (toxine + 1/200 c. c. sérum); 15 février, injection dans le cerveau de 1/8 c. c. de sérum; un peu malade, puis se rétablit; 29 mars, *résensibilisé* (toxine + 1/175 c. c. sérum); 18 avril, épreuve intracérébrale (1/4 c. c.); le cobaye présente des symptômes d'anaphylaxie très graves, mais se rétablit.

Deux cobayes n° 27 et n° 33; 31 janvier, *sensibilisés* (toxine + 1/200 c. c. sérum); 15 février, injection de 1/80 c. c. sérum antiscarlatineux de Moscou dans le cerveau; ils résistent (1/40 c. c. de ce même sérum a tué dans les mêmes conditions); 29 mars, *résensibilisés* (toxine + 1/175 c. c. sérum); 18 avril, épreuve intracérébrale; symptômes caractéristiques d'anaphylaxie et mort en 5 et 7 minutes.

Cobaye n° 41; 31 janvier, *sensibilise* (toxine + 1/200 c. c. sérum); 14 février, injection dans le cerveau de 1/8 c. c. sérum dans le cerveau; malade, puis se rétablit; 29 mars, *résensibilisé* (toxine + 1/175 c. c. sérum;

1. *Loc. cit.*

17 avril, épreuve intracérébrale (1/4 c.c.); l'animal présente des symptômes très graves d'anaphylaxie, puis se rétablit peu à peu.

Cobaye n° 15; 24 février, *sensibilisé* (toxine + 1/170 c. c. sérum); 9 mars, injection d'abord de 1/400 c. c. sérum dans le cerveau, puis 1 1/2 heure après, injection de 1/4 c. c. sérum dans le cerveau; le cobaye est malade, mais ne présente aucun symptôme anaphylactique; se rétablit très vite; 29 mars, *résensibilisé* (toxine + 1/175 c. c. sérum); 18 avril, épreuve intracérébrale (1/4 c. c.); mort en 5 minutes au milieu des symptômes caractéristiques.

Cobaye n° 42; 15 janvier, *sensibilisé* à Garches; 24 janvier, injection dans le péritoine de 4 c. c. sérum antistreptococcique; 7 février, *résensibilisé* (toxine + 1/175 c. c. sérum); 21 février, injection dans le cerveau de 1/4 c. c. sérum; l'animal présente des symptômes très graves; collapsus, etc., mais finit par se rétablir; 29 mars, *nouvelle résensibilisation* (toxine + 1/175 c. c. sérum); 18 avril, épreuve intracérébrale (1/4 c. c.); symptômes anaphylactiques très graves, puis mort après 30 minutes.

* * *

Avant de terminer, nous voudrions signaler quelques faits relatifs à la sensibilisation.

Après avoir démontré qu'il est facile de vacciner contre les accidents d'anaphylaxie par la voie cérébrale, nous nous sommes demandés s'il ne serait pas possible de sensibiliser par la même voie.

Trois cobayes neufs ont reçu dans le cerveau chacun 1/4000 c. c. de sérum normal, trois autres en ont reçu 1/40.000 c. c.

Éprouvés 19 jours après, dans le cerveau (1/4 c. c.), ces cobayes n'ont pas réagi; l'expérience a été répétée deux fois avec le même résultat.

Il s'ensuit donc que, au moins, dans les conditions indiquées, on n'arrive pas à sensibiliser les cobayes par la voie cérébrale. Il semble que pour donner lieu à l'anaphylaxie, il faille l'intervention des cellules actives autres que celles du cerveau, des cellules capables d'engendrer un corps nouveau.

Le période de 10-12 jours que le cobaye met pour devenir anaphylactique ne plaide-t-elle pas aussi en faveur d'un anticorps sensibilisant, ou sensibilisine?

Du reste, dans ses études sur le phénomène d'Arthus, si voisin de celui que nous étudions, M. Nicolle a pu mettre en évidence la présence de cet anticorps dans le sérum de ses lapins sensibilisés.

Fait très curieux, l'élaboration de la sensibilisine n'est pas

du tout paralysée par l'injection d'une dose massive de sérum faite à 24 heures d'intervalle.

On sait, en effet, que si l'on réussit à sensibiliser facilement des cobayes avec de très petites doses de sérum, on échoue par contre, à peu près sûrement, dès que l'on injecte d'emblée des doses élevées de sérum.

Or, nous avons constaté que, si à un cobaye sensibilisé dans de bonnes conditions, on injecte 24 heures après, dans le péritoine, 2-4 c. c. de sérum, on n'empêche pas la sensibilisation de se poursuivre; mis à l'épreuve cérébrale (1/4 c. c.) 10-12 jours après, ce cobaye va réagir comme un cobaye témoin qui n'a été que purement sensibilisé.

La dose massive de sérum injectée à 24 heures d'intervalle après la dose sensibilisante, agit donc différemment d'une dose massive injectée seule : elle n'empêche pas la sensibilisation; de plus, elle ne vaccine pas comme l'aurait fait cette même dose de sérum, injectée à cinq jours d'intervalle, et cela pour cette simple raison que, après 24 heures, le cobaye n'est pas encore prêt à être désensibilisé.

***

CONCLUSIONS

L'immunité conférée au cobaye sensibilisé par l'injection de doses massives de sérum dans le péritoine, dure au moins trois mois.

Elle dure également longtemps à la suite de la vaccination intracérébrale.

Celle-ci peut être réalisée non seulement au cours de la période qui précède l'anaphylaxie, mais encore après que celle-ci est déjà établie : il suffit d'injecter dans le cerveau de très faibles doses de sérum pour rendre le cobaye d'emblée anti-anaphylactique.

La vaccination anti-anaphylactique qu'elle soit obtenue par la voie péritonéale ou cérébrale, est très vraisemblablement un phénomène du même ordre que la désintoxication *in vitro* du cerveau tétanique par le sérum antitétanique.

La vaccination se réduirait donc à une désensibilisation et aurait pour effet de faire revenir le cobaye à son état primitif; l'immunité anti-anaphylactique ne serait donc que l'immunité

naturelle que tout cobaye normal possède vis-à-vis de l'injection intracérébrale de sérum.

La sensibilisation, facile à obtenir par l'injection sous-cutanée de sérum, ne s'opère pas par la voie cérébrale; elle exige évidemment l'intervention des cellules capables de produire des anticorps.

L'injection d'une dose massive de sérum dans le péritoine, faite 24 heures après la sensibilisation, n'empêche pas celle-ci; ce fait montre en même temps que l'injection précoce de sérum dans le péritoine ne vaccine pas contre l'anaphylaxie.

D'une manière générale, la plupart des faits rapportés dans le présent mémoire, ainsi que dans le mémoire précédent, semblent indiquer que les phénomènes d'anaphylaxie et d'anti-anaphylaxie se réduisent aux actions de précipitation et d'adsorption qui régissent les rapports des colloïdes entre eux.

La " Thim'ni ", myiase humaine d'Algérie causée par " *Œstrus ovis* L. ".

Par les Drs Edmond SERGENT et Etienne SERGENT.

SOMMAIRE

Étude de la maladie dans une vallée de Kabylie.
Étude de la Mouche.
Exception à la règle du non-parasitisme de l'Homme par *Œstrus ovis*.
Distribution géographique comparée de la Mouche et de la myiase.
Conclusions.

ETUDE DE LA MALADIE DANS UNE VALLÉE DE KABYLIE.

Il y a plusieurs années, M. B. Villiard, instituteur à Ifri, petit village kabyle de la commune mixte d'Akbou, attirait notre attention sur une affection des cavités de la face, fréquente chez les bergers des hautes montagnes kabyles. Nous avons pu étudier cette affection dans la vallée d'Ifri (tribu des Ouzellagen), grâce à la complaisance de M. B. Villiard que nous sommes heureux de pouvoir remercier ici, car c'est à lui que nous devons d'avoir pu faire ces recherches. Nous tenons aussi à remercier M. Batouche Mohamed, élève à l'École normale de Bouzaréa, qui s'est livré pour nous à de nombreuses chasses entomologiques.

Ce que nous avons observé dans la vallée d'Ifri, en premier lieu, est vrai pour tout le pays kabyle, nous allons donc le rapporter brièvement.

La vallée élève rapidement ses pentes peu fertiles, mais admirablement cultivées et garnies de nombreux villages très peuplés, jusqu'à une altitude de 1,000 mètres environ. Ici, les maigres cultures d'Orge, les jardins fruitiers et les Hêtres s'arrêtent, et jusqu'aux crêtes (1,200 à 2,000 mètres) ne s'étendent que des prairies à l'herbe rase, aux eaux abondantes et fraîches. Les villages surpeuplés de la vallée envoient pendant l'été leurs troupeaux de Moutons, toujours peu nombreux, dans ces prairies où les bêtes couchent dans des enclos de pierres sèches (*azib*).

Les jeunes gens, qui gardent les Moutons à tour de rôle, montent des villages se remplacer très fréquemment.

Ce sont ces bergers qui sont très souvent atteints d'une inflammation des cavités de la face, causée par les larves d'un Œstre qui suit les Moutons, et qu'ils appellent *Thim'ni*.

Le nom de la Mouche est appliqué aussi à la myiase.

Cet Œstre hante les pâturages des crêtes, et ne descend jamais jusqu'aux villages. Il pond au vol, rapidement, sans se poser, ses larves sur les yeux, les narines, les lèvres des bergers, surtout de ceux qui ont mangé du fromage frais de Brebis ou de Chèvre. L'Œstre pond également dans les cavités de la face des Chiens, qui se nourrissent aussi de fromage.

A la suite de la ponte dans l'œil, on ressent aussitôt une vive cuisson, la vision est impossible, les conjonctives sont tuméfiées, et à leur surface s'agitent des petits Vers, blancs et très mobiles.

C'est quand la ponte a eu lieu dans les cavités nasales que la douleur est le plus intense : douleur frontale insupportable, sommeil impossible, sensation de démangeaison dans le sinus, écoulement séreux continuel par les narines.

Si l'Insecte a pondu sur les lèvres, l'inflammation intéresse la gorge ; déglutition rendue très difficile et douloureuse, toux continuelle. Vomissements, qui rendent parfois des petits Vers. La gorge est rouge et tuméfiée.

Chez les Chiens, les symptômes sont identiques.

La durée oscille entre 3 et 10 jours, l'inflammation du nez est plus longue que celle des autres cavités. La guérison survient toujours.

Le traitement efficace d'après les indigènes consiste : pour les yeux, à enlever les larves avec un morceau de linge ; pour le nez, à fumer ou à priser du tabac ; pour la gorge, à avaler de la macération de tabac dans l'eau, ou de l'oignon, de l'ail, du piment.

***

ÉTUDE DE LA MOUCHE

La capture de l'Œstre est très difficile : on ne le voit qu'au moment des chaleurs, durant tout l'été, mais seulement les jours où il fait très chaud (au moins 30 degrés), du soleil et pas

de vent. Il vole au-dessus des Moutons, surtout quand ceux-ci sont tous rassemblés, pendant la grande chaleur du jour. Nous devons quelques exemplaires de cet Œstre à l'habileté de M. Batouche Mohamed. Grâce à ces exemplaires, nous avons pu nous convaincre que la *Thim'ni* des Kabyles est l'*Œstrus ovis* Linné, dont voici les caractères (d'après Brauer) :

Aspect général. — Mouche de 12 mm. de longueur, assez trapue, teinte générale sombre. Tête globuleuse jaune claire, avec petits yeux noirs. 3 ocelles. Sur la nuque et le thorax, tubercules noirs d'où sort un poil. Abdomen *jaune d'or brillant*, avec des dessins noirs très découpés.

Détermination. — Troisième article des antennes plus long que le second, et porteur d'un style nu. Pièces buccales très imparfaitement développées : rudiment de trompe et les 2 palpes seuls visibles, petits et globuleux..... OESTRIDÉS.

La face, au-dessous des fossettes des antennes, légèrement sillonnée. Nervure transversale apicale distincte. Front saillant. Tête globuleuse. Pattes peu longues et fragiles. Femelle larvipare, sans oviscapte. Cuillerons grands. Larves adultes dans le sinus ou le pharynx..... CAVICOLES.

Première cellule postérieure fermée, 4e nervure longitudinale (cubitus) sans appendice, et s'éloignant du bord postérieur, à partir du niveau de la transversale postérieure. Corps à peu près nu, rugueux. Face assez plate, étroite.

Nervures transversales apicales et postérieures obliques, à peu près parallèles au bord postérieur. 4e nervure longitudinale plus courte que la 3e. 1re cellule postérieure distinctement pédiculée.

Rudiment de trompe conique, ne dépassant pas les palpes. Sur l'abdomen, à l'extrémité postérieure, et au-dessous, longs poils.

Cinquième segment semilunaire..... OESTRUS L., *s. str.* Brauer, OVIS L.

Nous croyons utile de donner ici les noms arabes ou kabyles des Diptères qui attaquent les Ovidés, les Bovidés et les Equidés dans l'Afrique du nord.

Deban-el-zerga. — Mouche verte. Muscide pondant dans les plaies.
Deban-el-kahla. — Mouche noire. Muscide pondant dans les plaies.
Namous. — Moustique (ou Simulie).
Debab. — Taon.
Chiheb. — Gros Taon. (*T. bovinus.*)
Takouk. — Hypoderme.
Naoura. — Œstride des Equidés.
Thim'ni. — (Nom kabyle) *Œstrus ovis.*

La *Thim'ni* est peut-être la Mouche appelée à La Calle : *Ledgha*, et dans d'autres localités : *Deban-el-ghenem* (Mouche des Moutons) ; à la Séfia, *Deban-el-doud* (Mouche du Ver) ; à Teniet-el-Haad : *Medeghri* ou *Deban-el-ras* (Mouche de la tête).



EXCEPTION A LA RÈGLE DU NON-PARASITISME DE L'HOMME PAR *ŒSTRUS OVIS*

Nous étions donc en possession de faits de parasitisme fréquent des cavités faciales de l'Homme par des larves de l'Œstre du Mouton, en Kabylie.

Or l'opinion classique était jusqu'alors qu'*Œstrus ovis* n'attaquait pas l'Homme [1].

Une seule observation avait été apportée par S. Kirschmann [2] d'une paysanne de Smela (Russie) souffrant depuis 4 ans d'une tuméfaction de la région nasale, avec céphalée et épistaxis, et évacuant, après une injection d'une solution de perchlorure de fer, 79 Vers vivants qui furent reconnus par les paysans présents pour ceux de l'Œstre du Mouton (*Schafbremse*).

Mais F. Löw, de Vienne, n'eut pas de peine à démontrer [3] que cette détermination n'avait pas une base scientifique bien solide, en raison surtout des trois objections suivantes :

1° Aucune larve d'Œstride n'atteint les dimensions de 2 cm. de longueur sur 1/4 de cm. de largeur, présentées par les larves expulsées;

2° Le grand nombre (79) de ces larves n'est pas habituel quand il s'agit d'Œstrides;

3° Jamais on n'a vu les larves d'Œstres vivre dans du tissu gangrené et sanieux, comme c'était le cas pour la paysanne.

Tous ces caractères, qui ne conviennent pas à un Œstre, appartiennent au contraire aux Sarcophagides, et F. Löw estime que c'est à cette famille qu'appartenaient les larves du cas de Kirschmann.

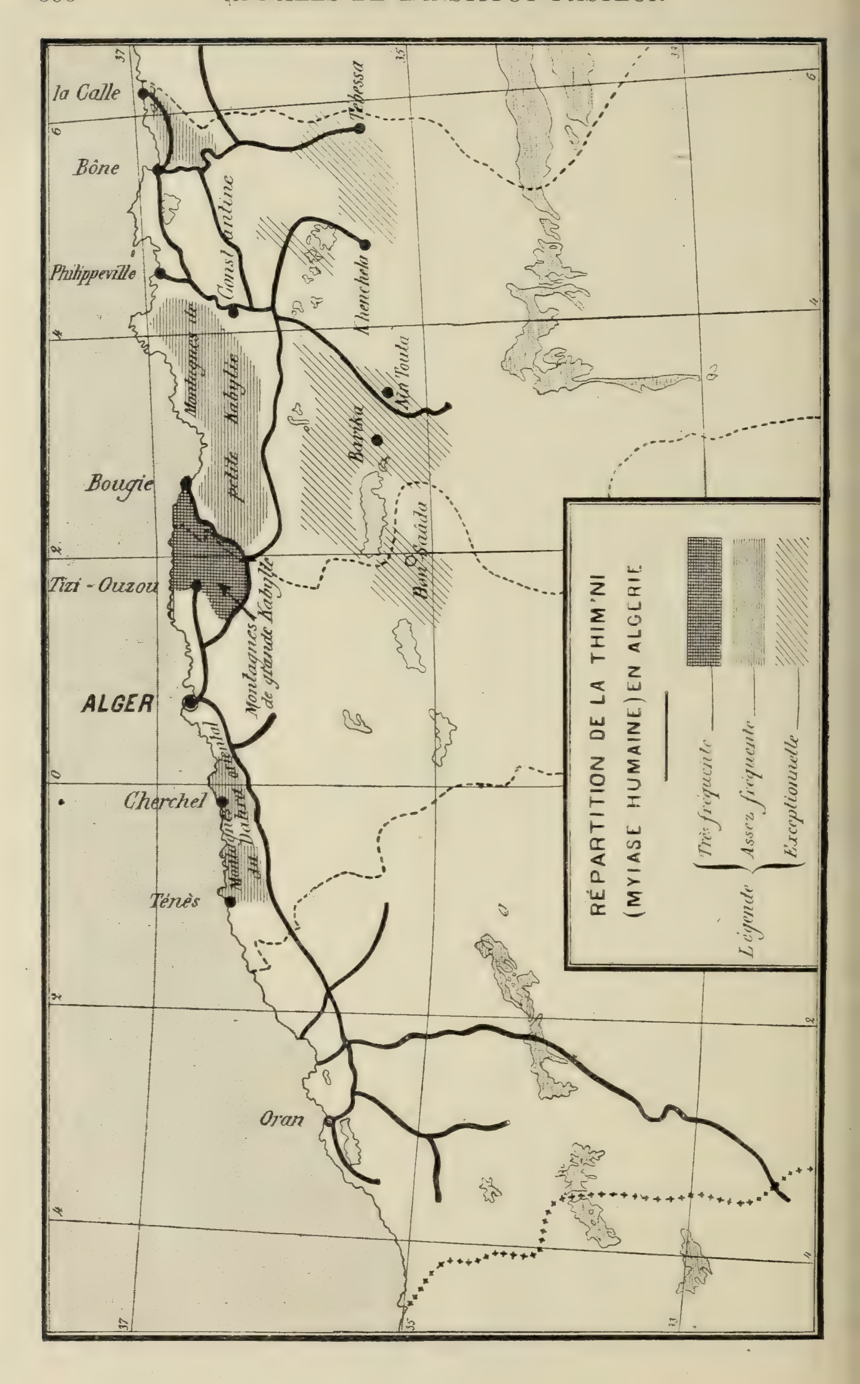


DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE COMPARÉE DE LA MOUCHE ET DE LA MYIASE.

Nous avons recherché si la répartition de la myiase était aussi étendue en Algérie que celle de l'*Œstrus ovis*, qui, on le sait, est répandu dans le monde entier.

Dans la littérature médicale algérienne, nous avons trouvé des observations banales de parasitisme de l'Homme par des larves de Muscides qui vivent dans les plaies, mais jamais par des larves d'Œstrides.

1. Voir Railliet, *Zoologie médicale et agricole*.
2. S. Kirschmann, Œstridenlarven beim Menschen. *Wiener medizin. Wochenschrift*, 3 déc. 1881, XXXI, p. 1370.
3. F. Löw, Bemerkungen zu Dr S. Kirschmann's Aufsatz « Œstridenlarven beim Menschen. » *Wiener medizin. Wochenschrift*, 1882, XXXII, p. 248.


RÉPARTITION DE LA THIM'NI
(MYIASE HUMAINE) EN ALGERIE
Légende
Très fréquente
Assez fréquente
Exceptionnelle
la Calle
Bône
Philippeville
Constantine
Tebessa
Khenchela
Aïn Touta
Barika
Bou Saâda
Bougie
Montagnes de petite Kabylie
Tizi-Ouzou
Montagnes de grande Kabylie
ALGER
Cherchel
Ténès
Oran

David et Estor [1] : *Musca* (*Sarcophaga*) *carnaria* (myiase de l'oreille).

Rouget [2] à Barika : *Lucilia hominivorax* dans les fosses nasales.

Creutz [3] : *Calliphora vomitoria* dans le conduit auditif externe et l'oreille moyenne d'un enfant indigène de 30 mois.

Larves du même genre dans la gencive ulcérée et tuméfiée d'un vieillard indigène.

Brault [4] a cité des cas analogues.

Sur notre demande, M. le Gouverneur général a bien voulu ordonner une enquête auprès de MM. les Administrateurs de Commune mixte, Maires, Commandants supérieurs des Cercles. Vétérinaires sanitaires.

Il résulte de cette enquête :

I. En premier lieu, que l'*Œstrus ovis* existe, en Algérie, dans toutes les régions où l'on élève des Ovins.

II. En second lieu, qu'il attaque l'Homme seulement dans certaines contrées :

1° Souvent, dans les montagnes de la *grande Kabylie* du Djurdjura, où peu de bergers restent indemnes:

Arrondissement de Tizi-Ouzou : Communes mixtes du Haut-Sebaou, de Fort-National, de Dra-el-Mizan, d'Azeffoun, de Mizrana, du Djurdjura;

Arrondissement d'Alger : Communes mixtes d'Aïn-Bessem, de Beni-Mansour;

Arrondissement de Bougie : Communes mixtes d'Akbou, de la Soummam.

2° Assez souvent.

A. Dans les montagnes de la *Petite Kabylie*.

Arrondissement de Bougie. Communes mixtes de Tababort, de Taher, de l'Oued-Marsa.

Chaines littorales jusqu'à La Calle.

B. Dans les régions montagneuses qui s'étendent du massif du Chenoua jusqu'au cap Ténès, *Dahra oriental*. Commune de Tipaza, Commune mixte de Gouraya, Communes de Cherchell, de Lavarande, de Montenotte, de Ténès;

3° Exceptionnellement, dans certaines parties des steppes constantinois : le Hodna, les cercles de Bou-Saada, de Khen-

1. *Arch. de médecine militaire*, t. XXII, 1893, pp. 250-255.
2. *Arch. de médecine militaire*, t. XXVI, 1895, pp. 322-324.
3. *Bull. méd. de l'Alg.*, t. X-XI, n° 5, sept. 1900, pp. 157-159.
4. *Path. et Hyg. des indigènes musulmans d'Algérie*, 1905, p. 147.

chela, de Tébessa, l'annexe de Barika, la commune mixte d'Aïn-Touta, celle de l'Aurès(?).

D'après les renseignements centralisés par la Préfecture et par la Division d'Oran, la *Thim'ni* n'attaquerait pas l'Homme dans ce dernier département.

Un fait saute aux yeux lorsque l'on considère la répartition de la myiase humaine due à l'Œstre de Mouton (voir la carte), c'est qu'elle est fréquente là où les Moutons sont rares et la population dense (Kabylie) [1] tandis qu'elle est exceptionnelle ou inconnue là où les Moutons sont très nombreux et la population clairsemée : dans ce qu'on a appelé le *Pays du Mouton*.

C'est ainsi que nulle part le nombre des Ovins n'est plus faible, par rapport au nombre des habitants, que dans l'arrondissement de Tizi-Ouzou (100,000 Ovins contre 400,000 habitants). Cet arrondissement est justement celui où la *Thim'ni* incommode le plus les indigènes (montagnes kabyles).

Les autres arrondissements où sévit la myiase sont :

		ARRONDISSEMENT	[illegible]	(Habitants chiffre total)	Habit. en defalquant ceux du lieu.
Myiase fréquente.	Grande Kabylie.	Arrondis. Bougie.	130.000	380.000	370.000
— assez fréq.	Dahra oriental.	— Alger.	340.000	590.000	490.000
— — —	Petite Kabylie.	— Philippeville.	60.000	130.000	100.000
— — —	— —	— Bône.	80.000	130.000	100.000

Dans tous les autres arrondissements de l'Algérie, d'une part, la myiase est exceptionnelle ou inconnue, d'autre part, le nombre des Ovins est plus élevé, par rapport au nombre des habitants, que dans les arrondissements précédents.

CONCLUSIONS

Contrairement à l'opinion reçue jusqu'ici, *Œstrus ovis* L. est l'agent d'une myiase humaine, très commune dans certaines contrées de l'Algérie.

1. Le mot de *Thim'ni* est d'ailleurs lui-même kabyle (et chaouïa.)

Ses larves, pondues dans les cavités faciales de l'Homme, y provoquent une inflammation très douloureuse, sinon grave. Le tabac est le meilleur remède.

Cet Œstre, qui existe dans toute l'Algérie, n'attaque l'Homme que dans certaines régions montagneuses, où la population ovine est moins nombreuse que la population humaine. Ces régions sont surtout la Grande Kabylie, puis la Petite Kabylie, le Dahra oriental. Là où la population ovine dépasse de beaucoup la population humaine, l'Œstre n'attaque pas, ou attaque exceptionnellement l'Homme.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE JUIN 1907 N° 6

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA

TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DU COBAYE

(Infection et essais de vaccination par la voie digestive)

PAR A. CALMETTE, C. GUÉRIN ET M BRETON.

Institut Pasteur de Lille.

De tous les mammifères susceptibles d'être infectés expérimentalement avec les virus tuberculeux d'origine bovine ou humaine, le cobaye est le plus sensible : aussi l'emploie-t-on presque exclusivement dans les laboratoires pour le diagnostic des produits qui sont supposés contenir des bacilles de Koch.

Pourtant cet animal présente cette particularité curieuse qu'il ne devient presque jamais spontanément tuberculeux dans les élevages, tandis qu'il contracte avec une extrême facilité la tuberculose lorsqu'on introduit dans son organisme quelques bacilles, soit par inoculation sous-cutanée, soit par inoculation intrapéritonéale.

Les études que nous poursuivons depuis plusieurs années à l'Institut Pasteur de Lille, sur la pathogénie de l'infection tuberculeuse chez les *bovidés* et chez les *chèvres*, nous ont conduits à tenter de réaliser chez le *cobaye* l'infection et la vaccination par les voies digestives, en utilisant les mêmes méthodes que nous avons déjà employées, avec des résultats fort encourageants, chez les grands mammifères.

Le présent travail résume les nombreuses observations que nous avons pu faire dans cet ordre d'idées.

I

TECHNIQUE EMPLOYÉE

Lorsqu'on fait ingérer à des cobayes, en mélange avec leurs aliments, soit des fragments broyés d'organes provenant d'animaux tuberculeux, soit des cultures sur pomme de terre, soit du lait additionné de cultures, il arrive très fréquemment qu'ils ne contractent pas la tuberculose. Même lorsque ces ingestions sont répétées plusieurs fois, un grand nombre de cobayes restent indemnes. Seul le lait, artificiellement infecté et quotidiennement absorbé pendant plusieurs jours, finit par contaminer tous les animaux. C'est ainsi que *E. C. Schroeder* et *W. E. Cotton* [1] ont vu que les cobayes, nourris pendant 30 jours avec du lait contenant une petite quantité de bacilles finement émulsionnés, contractaient la tuberculose dans la proportion de 100 p. 100, alors que ceux qui recevaient la même ration pendant 13 jours n'étaient contaminés que dans la proportion de 33 p. 100.

Pour rendre l'infection plus constante, nous avons préféré adopter une technique dont l'efficacité a fait ses preuves entre nos mains vis-à-vis du lapin, de la chèvre et du bœuf.

Cette technique consiste à porter directement dans l'estomac, à l'aide d'une sonde œsophagienne (l'animal étant à jeun depuis 24 heures), les bacilles fraîchement obtenus de cultures sur pomme de terre âgées d'environ 30 jours et très finement émulsionnés. L'émulsion, pour être assez fine, doit être effectuée d'abord au mortier d'agate, dans quelques gouttes d'une solution de carbonate de soude au 2/000. On y ajoute ensuite peu à peu une quantité suffisante de décoction mucilagineuse de graine de lin, décoction préparée en faisant bouillir pendant 15 minutes 15 grammes de graines de lin dans 1 litre d'eau. Les graines sont séparées par simple décantation. La consistance de ce liquide est sensiblement égale à celle de la salive. Elle a pour but de tenir les bacilles bien divisés en état de suspension parfaite jusqu'à leur arrivée dans l'intestin.

Pour immobiliser l'animal, nous introduisons verticalement les 2/3 postérieurs de son corps dans une boîte en carton cylin-

1. U. S., department of Agriculture, Bureau of animal industry, *Bull.* n° 86, 1906.

drique, de 7 à 8 centimètres de diamètre et de 14 à 15 centimètres de profondeur. L'ouverture des mâchoires est assurée à l'aide de deux galons de fil dont l'un enserre la mâchoire supérieure tandis que l'autre, passé sur les incisives inférieures, maintient l'écartement. Un seul aide, de ses deux mains, immobilise le tout.

Les sondes œsophagiennes que nous employons pour le cobaye sont de simples sondes uréthrales en gomme (n° 7 de la filière de Charrière), sur le pavillon desquelles est lié un ajutage destiné à recevoir le bec d'une seringue à injection.

L'extrémité libre de la sonde étant préalablement mouillée d'eau, l'opérateur lui fait suivre le milieu de la voûte palatine; elle arrive dans le pharynx et s'engage sans effort dans l'œsophage. On l'enfonce d'environ 8 centimètres.

La seringue, préalablement chargée du liquide infectant, est alors greffée sur l'ajutage. On pousse doucement le piston et, lorsque toute la dose à injecter est passée dans la sonde, on remplace la seringue vide par une autre qui contient une égale quantité d'eau que l'on propulse à l'intérieur de la sonde, en même temps qu'on retire celle-ci de quelques centimètres et qu'elle s'essuie sur les parois de l'œsophage.

Finalement, la sonde est extraite d'un mouvement rapide et il est facile de s'assurer, en faisant cette opération à *blanc* avec des liquides colorés, qu'aucune trace de matière virulente ne peut refluer dans les premières voies respiratoires. Toute la manœuvre s'effectue en moins d'une minute.

*
* *

Dans une de nos séries d'expériences, nous avons fait absorber, comme il vient d'être dit, à *quarante cobayes adultes* pesant de 500 à 800 grammes, *un centigramme* de bacilles tuberculeux d'origine bovine, pesés à l'état frais et simplement essorés entre deux doubles de papier buvard stérile.

Quatre d'entre eux sont morts dans les 12 premiers jours après cet unique repas infectant : ils étaient porteurs de lésions de pleuro-pneumonie dues à une *Pasteurella*. Les ganglions mésentériques de 2 d'entre eux, triturés et inoculés, déterminèrent une pasteurellose septicémique mortelle en 48 heures.

Les ganglions mésentériques des 2 autres, morts le

10ᵉ jour, donnèrent la tuberculose aux 2 animaux inoculés. Ces ganglions étaient donc déjà infectés.

A partir du 15ᵉ jour, les 36 cobayes restants commencèrent à maigrir, 13 succombèrent du 15ᵉ au 30ᵉ jour. Tous les autres moururent successivement, pour la plupart au milieu du 2ᵉ mois, 45 à 50 jours après l'infection. Le dernier succomba le 71ᵉ jour.

*
* *

Avant de décrire les lésions que nous avons observées, rappelons brièvement les dispositions essentielles du système ganglionnaire chez le cobaye.

Les principaux collecteurs de la lymphe sont : les *troncs jugulaires* qui, situés à côté des veines jugulaires droite et gauche, ramènent la lymphe de la tête et du cou, et le *canal thoracique* qui collecte la lymphe des viscères, des parois de l'abdomen, des membres postérieurs et le chyle de l'intestin. Ce dernier, *impair*, prend naissance au niveau de la région sous-lombaire; il est formé par la réunion des troncs lombaires (citerne de Pecquet). Il se dirige en avant, en suivant l'aorte abdominale, franchit le diaphragme et va se jeter dans la veine sous-clavière gauche.

Les principaux ganglions lymphatiques sont : les *ganglions massétériques*, petits nodules symétriques, de la grosseur d'un grain de chènevis, accolés et noyés dans le tissu conjonctif, vers le point de réunion des deux branches du maxillaire inférieur. Les *ganglions cervicaux* dont les uns, *superficiels*, sont à côté de la veine jugulaire externe, au niveau du premier anneau cartilagineux de la trachée; les autres, *cervicaux profonds*, au nombre de deux, de la grosseur d'un grain de blé, sont situés sous le muscle sterno-mastoïdien, en dehors du pneumogastrique et des carotides externe et interne; ils paraissent correspondre aux *rétro-pharyngiens* des grandes espèces.

Les *ganglions axillaires* sont situés dans le creux de l'aisselle, sous la veine axillaire; les *ganglions bronchiques* à la bifurcation de la trachée. Enfin, sur le plancher du sternum, tout à fait en avant, au niveau de la première côte, se trouve un petit nodule gros comme un grain de millet, qui filtre la lymphe du diaphragme et des parois costales inférieures.

Dans la cavité abdominale on trouve deux groupes de gan-

glions : les *mésentériques supérieurs*, les plus importants, qui atteignent le volume d'une grosse lentille, et les *mésentériques inférieurs*, beaucoup plus petits, avoisinant l'artère et la veine mésentériques au niveau du colon descendant.

Enfin, desservant immédiatement les membres postérieurs, on trouve les *ganglions inguinaux supérieur* et *inférieur* dont l'un est au pli de l'aine et l'autre à la naissance de la cuisse.

*
* *

Les lésions tuberculeuses constatées à l'autopsie de nos animaux étaient d'autant plus étendues que la mort avait été plus tardive.

Tous les cobayes qui ont succombé du 15e au 30e jour présentaient une adénopathie très accusée des ganglions mésentériques supérieurs et inférieurs. Les supérieurs, qui desservent l'intestin grêle, de beaucoup les plus atteints, étaient triplés de volume.

Ils se présentaient tantôt sous forme d'une masse aplatie, circulaire ou ellipsoïde, de 10 à 15 millimètres dans leur plus grande largeur, tantôt sous forme de deux ou plusieurs corps arrondis, reliés entre eux par du tissu conjontif très dense. Sur la coupe, ils n'ont montré aucune trace de caséification.

Les mésentériques inférieurs qui ne desservent que le gros intestin et le colon flottant ne participent pas toujours, à cette période, à l'infection : quelquefois cependant ils sont déjà malades.

L'examen le plus minutieux de l'intestin, ainsi que des organes annexes du tube digestif, ne permet pas de déceler la moindre trace de lésion.

Lorsque la mort survient du 40e au 50e jour, les deux groupes ganglionnaires sont volumineux et ils présentent constamment des foyers de caséification plus ou moins avancée, parfois même du ramollissement total. La masse ganglionnaire est alors transformée en une véritable poche purulente grosse comme une noisette. Même dans ces conditions, nous avons toujours trouvé l'intestin, le foie et la rate indemnes de toute lésion tuberculeuse.

Parmi les sujets morts dans les 30 premiers jours, deux seulement portaient des lésions thoraciques. Celles-ci étaient au

contraire *constantes* chez les cobayes qui ont succombé plus tardivement.

Tantôt pulmonaires, elles consistaient en tubercules généralement de la grosseur d'une petite tête d'épingle, siégeant en nombre variable, mais presque toujours assez restreint, sur les lobes antérieurs d'un ou deux poumons. Dans quatre cas seulement quelques tubercules avaient leur siège à la partie antérieure des lobes postérieurs. Ces tubercules, souvent isolés, étaient parfois réunis et constituaient un foyer de pneumonie grise occupant une partie ou même la totalité d'un lobe.

Chez plusieurs cobayes nous avons trouvé ces foyers pneumoniques soudés à la paroi costale par quelques faisceaux pseudo-membraneux minces et fragiles, avec ou sans épanchement pleurétique concomitant.

Les lésions du poumon, quelle que soit leur forme, étaient généralement caséeuses. Dans de rares cas pourtant nous avons trouvé un ou plusieurs petits tubercules pulmonaires récents, isolés.

Toutes les fois que le poumon était atteint, les ganglions trachéo-bronchiques correspondants l'étaient aussi.

Placés à la bifurcation de la trachée, ces ganglions sont le plus souvent au nombre de deux et nettement distincts à droite et à gauche. Leur grosseur normale est celle d'un grain de chènevis. Quelquefois il en existe un plus grand nombre, quatre ou cinq, entourant la base de la trachée, et, lorsqu'ils sont le siège de lésions tuberculeuses, ils forment un collier enserrant cette dernière.

Lorsque ces ganglions sont au nombre de deux et distincts, il est fréquent qu'un seul participe à l'infection et atteigne le volume d'un gros pois tandis que l'autre conserve son aspect normal. C'est qu'alors le poumon du côté desservi par le ganglion sain est indemne.

Nous avons toujours vu que ces lésions des ganglions trachéo-bronchiques, chez le cobaye, évoluent plus rapidement vers la caséification que les lésions pulmonaires. Elles paraissent avoir déterminé la mort de tous ceux de nos animaux qui ont survécu plus de 30 jours.

Le petit ganglion sous-sternal ne semble pas participer à l'infection tuberculeuse lorsque celle-ci dérive du tube digestif.

On sait au contraire qu'il est fréquemment intéressé à la suite de l'inoculation par voie péritonéale.

*
* *

Outre les lésions abdominales et thoraciques que nous venons de décrire, on observe parfois d'autres lésions tuberculeuses diversement localisées chez les cobayes infectés par l'intestin.

C'est ainsi que, lorsque la mort survenait entre 50 et 60 jours, nous avons presque constamment trouvé des altérations tuberculeuses des *ganglions cervicaux profonds*, lesquels correspondent aux ganglions rétro-pharyngiens des grandes espèces animales. Ces ganglions sont alors triplés ou quadruplés de volume et perceptibles à la palpation du vivant de l'animal. Ils peuvent présenter des foyers de caséification plus ou moins étendus.

Sur nos 36 cobayes, 9 étaient porteurs de lésions de cette nature.

Un autre de nos sujets, mort le 41e jour, avait une *orchite double* ayant soudé les testicules au fond des bourses ; ces derniers étaient durs et rétractés dans une enveloppe de tissu fibreux gris jaunâtre. L'un de ces organes montra sur la coupe un petit foyer caséeux de la grosseur d'un grain de chènevis. L'examen microscopique du pus y décela en abondance des bacilles tuberculeux,

Enfin chez un dernier cobaye mort le 48e jour, nous trouvâmes une *arthrite-fémoro-tibio-rotulienne* tuberculeuse. Une enveloppe fibreuse très épaisse entourait l'articulation. L'ouverture de celle-ci en fit sourdre une petite quantité de pus blanc, crémeux, riche en bacilles.

On peut supposer que ces lésions localisées ont eu pour point de départ des traumatismes accidentels, mais rien n'autorise à affirmer qu'elles ne se sont pas constituées spontanément.

*
* *

Nous nous sommes demandé si la fréquence des lésions ganglionnaires *cervicales* que nous avons observées au cours de nos autopsies (9 sur 36) ne pouvait pas résulter d'une contamination primitive des voies antérieures (bouche ou pharynx) qui aurait pu se produire lors de l'introduction à la sonde du repas infectant, malgré les précautions que nous avons prises pour éviter cette contamination.

L'expérience suivante nous a montré qu'il n'en était rien :

Quatre cobayes ingèrent à la sonde, chacun 3 centigrammes de culture de tuberculose bovine fraîche, finement triturée. Dix jours après, ces 4 cobayes sont tués par section du cou. Sans ouvrir la cavité abdominale, et avec des instruments stériles, on extirpe les *ganglions inguinaux* d'une part, les ganglions *cervicaux profonds* d'autre part.

Chacun de ces groupes ganglionnaires est trituré séparément dans des mortiers stériles et inoculé sous la peau de la cuisse de 4 cobayes neufs.

Les 8 cobayes ainsi inoculés sont tous morts tuberculeux après avoir présenté des adénites inguinales spécifiques. 7 sont morts du 35e au 48e jour. Un seul a succombé le 73e jour avec des lésions énormes de la rate et du foie.

Cette expérience montre que, tout au moins pendant les 10 premiers jours après l'absorption des bacilles par le tube digestif, l'infection tuberculeuse est étendue à tout le système lymphatique. Cette infection reste passagère dans certains groupes ganglionnaires moins exposés ou mieux défendus, et devient définitive pour certains autres où les localisations habituelles de la tuberculose ne tardent pas à s'établir.

*
* *

L'infection tuberculeuse des cobayes par les voies digestives s'effectue avec une telle constance, lorsqu'on emploie la technique ci-dessus décrite, qu'il nous a paru nécessaire de rechercher pourquoi on ne parvient à la réaliser qu'irrégulièrement en faisant absorber à ces animaux soit des organes tuberculeux broyés, soit des cultures sur pommes de terre ou en bouillon simplement incorporées à leur nourriture.

Dans une série d'expériences portant sur 12 cobayes de tout âge, pesant de 200 à 600 grammes, nous avons nourri exclusivement ces animaux pendant 3 jours de suite avec de la purée de pommes de terre et de carottes, à laquelle nous avons mélangé pour chaque ration 0,05 centigrammes de culture sur pomme de terre de bacilles tuberculeux bovins, grossièrement broyés au mortier. 3 seulement sont morts de 45 à 72 jours après le premier repas. Les autres sont tous restés

indemnes. Sacrifiés six mois plus tard, ils ne présentaient aucune lésion tuberculeuse.

Une autre série de 8 cobayes ingéra à deux reprises, à 8 jours d'intervalle, une purée de pommes de terre et de carottes à laquelle on avait incorporé une rate de cobaye tuberculeux préalablement broyée. Un seul de ces animaux prit la tuberculose et mourut le 52e jour avec des lésions caractéristiques, ganglionnaires et pulmonaires.

Une troisième série de dix cobayes, parmi lesquels 4 jeunes pesant de 150 à 200 grammes, absorba à la pipette et sans sonde œsophagienne une seule dose de 0,01 centigramme de bacilles bovins très finement divisés au mortier d'agate, puis émulsionnés dans une décoction de graine de lin. Tous succombèrent : les 4 jeunes du 25e au 40e jour, exclusivement avec des lésions ganglionnaires ; les adultes, du 35e au 76e jour, avec des lésions mixtes, ganglionnaires et pulmonaires.

En conséquence, il apparaît bien évident :

1° Que, *pour être sûrement absorbés par les parois du tube digestif, les bacilles tuberculeux doivent se trouver à l'état d'émulsion très fine et stable, comme ils le sont dans le lait ou dans la salive ;*

2° Que les bacilles inclus dans les fragments de tissus, ou en grumeaux mélangés aux aliments solides, ne sont que très exceptionnellement capables d'infecter les cobayes qui les ingèrent ;

3° Que la contamination du cobaye peut s'effectuer *constamment* par des bacilles en état de suspension fine, que ces bacilles soient simplement déglutis à la pipette ou qu'ils soient introduits dans l'estomac à l'aide de la sonde œsophagienne.

L'ingestion à la sonde n'est donc pas un mode de contamination plus particulièrement grave : seul l'état finement divisé de la matière infectante entre en jeu. Ce fait avait été déjà mis en lumière par nos études antérieures sur les bovidés et sur les chèvres [1].

II

BACILLES TUBERCULEUX TUÉS. — LEUR TOXICITÉ PAR INGESTION POUR LE COBAYE

De nombreux expérimentateurs, parmi lesquels il convient de

1. Ces *Annales*, 1905, p. 601, et 1906, p. 353.

citer *Gamaleia, Roux et Nocard, Krompecher* [1], *Sternberg* [2], *Engelhardt* [3], *Cantacuzène* [4], ont montré que les bacilles tuberculeux tués par macération dans l'alcool, ou par chauffage à 120°, sont toxiques lorsqu'on les inocule sous la peau ou dans le péritoine du cobaye.

Louis Martin et Vaudremer [5], *Borrel, Cantacuzène et Irimescu* [6], *Vallée* [7], ont même établi que la toxicité persiste lorsque ces bacilles sont débarrassés aussi parfaitement que possible de leur enveloppe ciro-graisseuse.

Les bacilles tués par la chaleur ou par l'alcool font généralement périr les cobayes de 4 à 500 grammes, en injection intra-péritonéale, à la dose de 1 à 2 centigrammes, en 2 ou 3 jours.

Les bacilles privés de leur enveloppe par les dissolvants appropriés tuent en 36 heures un cobaye de 550 grammes à la dose de $0^{gr},20$, et en 5 jours un cobaye de 300 grammes à la dose de $0^{gr},08$.

Les phénomènes qui accompagnent cette intoxication rapide sont : nécrose aiguë des leucocytes, dégénérescence de l'épithélium rénal et de la fibre cardiaque, éosinophilie aiguë du sang, hypothermie.

Nous avons constaté que lorsqu'on fait absorber à la sonde ou à la pipette les mêmes bacilles tués par l'alcool ou par la chaleur, ou privés de leur enveloppe ciro-graisseuse, ils déterminent la mort en 2 à 5 jours à la dose de 20 à 35 centigrammes chez le cobaye adulte. Les jeunes sont encore plus sensibles : 10 centigrammes suffisent à les tuer en 48 heures à 3 jours.

Avec des doses moindres, les animaux maigrissent, se cachectisent et succombent après une ou plusieurs semaines. A l'autopsie on trouve les reins blancs, en état de dégénérescence amyloïde, les capsules surrénales hyperhémiées, le foie décoloré, la rate grosse. Les ganglions mésentériques sont volumineux, d'une teinte grisâtre.

Ces lésions, sauf pour les ganglions, sont identiques à

1. Ces *Annales*, 1900, p. 723.
2. *Centralb. f. all. Path.*, 1902, Bd. XII, p. 753.
3. *Zeitsch. f. hygiene*, 1902, Bd. XVI, p. 244.
4. Ces *Annales*, 1905, p. 699.
5. Congrès Internat. de méd., Paris, 1900, section de Bactériologie.
6. *Soc. de Biol.*, 21 oct. 1905.
7. *Soc. de Biol.*, 3 nov. 1906.

celles que l'on observe chez les animaux intoxiqués par ingestion de tuberculine (néphrite épithéliale prédominante).

Très souvent aussi, alors même que les bacilles ont été absorbés sans que l'on eût employé la sonde œsophagienne, les cobayes qui succombent présentent des lésions stomacales qui rappellent l'*ulcus rotundum*. Ce fait, que nous avons relevé dans 30 p. 0/0 de nos expériences, est à rapprocher de ceux que *Rosenau* et *Anderson* ont signalés dans l'intoxication diphtérique [1].

Nous n'avons jamais retrouvé de bacilles colorables ni de cellules géantes dans les coupes des ganglions mésentériques des cobayes morts en état de cachexie plusieurs semaines après l'ingestion. Il en existait au contraire toujours quelques-uns, inclus dans des leucocytes polynucléaires, dans les cas d'intoxication aiguë.

III

ESSAIS DE VACCINATION DU COBAYE PAR LE TUBE DIGESTIF

Nous résumons ici les résultats d'expériences variées qui ont porté sur 342 cobayes et qui ont été effectuées en vue de rechercher s'il est possible de vacciner ces rongeurs contre l'infection tuberculeuse expérimentale par le tube digestif.

Nous avons utilisé exclusivement pour ces tentatives des bacilles d'origine bovine, provenant des mêmes souches de cultures sur pomme de terre glycérinées (âgées de 4 à 6 semaines), lavés à l'eau distillée stérile sur un filtre, desséchés rapidement dans le vide, pesés, triturés finement au mortier d'agate, repris par l'eau salée physiologique et traités par divers réactifs ou par le chauffage.

1° *Bacilles macérés pendant* 10 *jours à l'étuve à* 37° *dans l'eau salée à* 10 *p.* 100, *renouvelées chaque jour*. — 18 cobayes (10 jeunes et 8 adultes). — 8 témoins.

Ces bacilles sont bien supportés en ingestion aux doses de 1 et 2 centigrammes à 1 mois d'intervalle. Deux mois après la seconde ingestion, les cobayes sont éprouvés en même temps que les 8 témoins par 1 centigramme de bacilles virulents finement émulsionnés. 90 jours après l'épreuve, tous les témoins sont morts ainsi que tous les traités jeunes et deux adultes.

1. *Journ. of Infectious diseases*. 1er janvier 1907.

Tous présentent des lésions ganglionnaires spécifiques. 4 des adultes survivants meurent entre 150 et 180 jours. On ne relève des lésions de tuberculose pulmonaire que sur un seul d'entre eux. Les autres ont seulement des lésions mésentériques avec foie gras et rate volumineuse sans tubercules ni bacilles. Chez l'un de ces derniers on trouve un ganglion mésentérique crétacé.

Deux cobayes résistent définitivement. On les sacrifie au bout d'une année : ils ne présentent aucune trace de lésion tuberculeuse ;

2° *Bacilles macérés dans la glycérine ;* d'abord 3 jours dans une solution de glycérine à 50 0/0, puis 3 jours à 75 0/0, 3 jours dans la glycérine pure à 30° B^{e}, et enfin lavés et séchés. 12 cobayes (6 jeunes et 6 adultes). 5 témoins.

Les bacilles ainsi traités, inoculés sous la peau à la dose de 5 milligrammes, produisent un nodule qui se résorbe au bout de 2 mois environ, sans suppurer. Mais les cobayes n'en succombent pas moins, après 75 à 90 jours, à une tuberculose viscérale généralisée.

Ingérée à deux reprises à 45 jours d'intervalle, cette même dose de 5 milligrammes ne protège en aucune manière. Les témoins et les traités meurent entre 35 et 85 jours ;

3° *Bacilles privés de leur enveloppe ciro-graisseuse.* Pour débarrasser les bacilles de leur enveloppe, on les a d'abord lavés et séchés. Après un rapide broyage au mortier d'agate, on les a fait macérer pendant 24 heures dans l'alcool absolu, pendant 48 heures dans l'éther de pétrole, puis pendant 7 jours dans le xylol et désséchés.

12 cobayes (4 jeunes et 8 adultes) ; 4 témoins.

Les cobayes traités ont ingéré à la sonde, à 45 jours d'intervalle, les jeunes 1 centigramme, les adultes 2 centigrammes.

Quarante-cinq jours après la seconde ingestion, on leur a fait absorber 1 centigramme de bacilles virulents en même temps qu'aux témoins.

Tous ont pris la tuberculose et sont morts entre 30 et 110 jours. Lésions mésentériques et pulmonaires ;

4° *Bacilles iodés.* Les bacilles, après 3 jours de macération

dans l'eau distillée, sont laissés pendant 24 heures dans la liqueur de Gram pure, à l'étuve ; lavés ensuite pendant 24 heures dans une solution à 1 0/0 d'iodure de potassium, puis à l'eau stérile et séchés.

Injectés sous la peau du cobaye à la dose de 1 centigramme, ils produisent un nodule qui se résorbe en 1 mois à 6 semaines.

L'injection intrapéritonéale de la même dose produit souvent, mais non constamment, des accidents de péritonite hémorragique et, lorsque ces accidents ne surviennent pas très peu de jours après l'injection, les cobayes meurent plus tard avec de la dégénérescence graisseuse du foie et des autres viscères abdominaux.

Douze cobayes (dont 4 jeunes) ont ingéré deux fois, à 45 jours d'intervalle, 1 centigramme de ces bacilles. 45 jours après la seconde ingestion, on leur a fait absorber à la sonde 1 centigramme de bacilles virulents, en même temps qu'à 9 témoins.

Six des cobayes traités, dont les 4 jeunes, ont succombé entre 60 et 90 jours sans lésions tuberculeuses mais avec de la dégénérescence graisseuse du foie, de la rate et des reins. 2 sont morts après 75 et 83 jours avec de la tubérculose ganglionnaire mésentérique, sans lésions pulmonaires ; quatre ont survécu une année. On les a sacrifiés alors : ils ne présentaient aucune lésion.

Les 6 témoins sont morts entre 35 et 80 jours ;

5° *Bacilles traités par l'eau de Javel* (*hypochlorite de soude*).

Ces bacilles, après 3 jours de macération dans l'eau distillée ont séjourné pendant 3 jours dans l'eau de Javel à 10 0/0, puis ont été lavés à l'eau distillée et séchés.

9 cobayes ont ingéré à deux reprises, à 45 jours d'ntervalle 1 centigramme de bacilles ainsi traités. 45 jours après le 2e repas, ils absorbent à la sonde 1 centigramme de bacilles virulents.

Tous ont rapidement maigri et sont morts à peu près dans le même délai que 4 témoins, entre 30 et 80 jours.

6° *Bacilles chauffés* 10 *minutes à* 100°.

I. — 8 cobayes, âgés seulement de 7 à 10 jours, ingèrent à

la sonde 2 milligrammes de ces bacilles. La même dose est ingérée de nouveau un mois après.

Deux mois plus tard, on leur fait absorber 5 milligrammes de bacilles virulents.

Six ont succombé moins de 15 jours après le repas infectant, sans lésions tuberculeuses apparentes, mais avec les reins volumineux, blancs, et des lésions de néphrite épithéliale. Les deux survivants ont été sacrifiés après 4 mois : ils ne présentaient aucune lésion tuberculeuse.

II. — Six autres cobayes adultes ont ingéré à deux reprises, 2 centigrammes des mêmes bacilles chauffés à 100°, à 45 jours d'intervalle, et ont été éprouvés 45 jours plus tard par 1 centigramme de bacilles virulents.

Quatre n'ont succombé que tardivement, entre 90 et 125 jours, avec des lésions exclusivement ganglionnaires discrètes et de la dégénérescence graisseuse des reins et du foie. Deux ont survécu 8 mois et ont été alors sacrifiés : ils étaient parfaitement sains.

III. — Quatre cobayes jeunes (deux à trois semaines) et quatre adultes ont absorbé d'abord 5 milligrammes de bacilles chauffés à 100°, puis, 1 mois après, 1 centigramme de ces mêmes bacilles. On les a éprouvés 2 mois plus tard par 1 centigramme de bacilles virulents.

Les quatre cobayes adultes ont survécu 5 mois. Ils ne portaient aucune lésion tuberculeuse, mais seulement des altérations rénales et hépatiques (néphrite épithéliale et dégénérescence graisseuse). Les quatre jeunes ont parfaitement résisté. 3 ont été sacrifiés après 18 mois et le dernier au bout d'un an. Leurs ganglions mésentériques étaient sains, mais deux d'entre eux avaient des adhérences pleurales sans lésions tuberculeuses des poumons.

7° *Bacilles chauffés* 10 *minutes à* 100° *pour la première ingestion et bacilles chauffés* 10 *minutes à* 65° *pour la deuxième.*

Six cobayes jeunes (de trois à six semaines) et 6 adultes ingèrent, à 45 jours d'intervalle, la première fois 5 milligrammes de bacilles chauffés à 100°, et la seconde fois 5 milligrammes de bacilles chauffés à 65°.

Quarante-cinq jours après la deuxième ingestion, on leur

fait absorber à la sonde 1 centigramme de bacilles virulents.

Deux cobayes adultes de cette série seulement succombent après 60 et 81 jours avec des lésions tuberculeuses discrètes. L'un avait de la pleurésie sèche et une adénopathie trachéo-bronchique assez intense ; l'autre un ganglion mésentérique caséeux et des lésions de péritonite plastique.

Quatre autres (1 des jeunes et 3 adultes) sont morts entre le 7e et le 9e mois, avec de la dégénérescence graisseuse des viscères abdominaux. Un seul avait un ganglion mésentérique suspect. Les ganglions de ces 4 cobayes, inoculés à des cobayes neufs, sous la peau de la cuisse, se sont montrés stériles.

Les 6 autres cobayes (5 des jeunes et 1 adulte) ont résisté. Sacrifiés après un an, ils ne présentaient aucune lésion suspecte. Huit témoins de cette série ont succombé entre 33 et 96 jours.

***

Outre les expériences que nous venons de relater, nous en avons fait un grand nombre d'autres en utilisant pour nos essais de vaccination des bacilles d'origine équine (culture due à l'obligeance de *Borrel*), des bacilles aviaires, des bacilles pisciaires (de *Dubard, Bataillon et Terre*), des bacilles de l'*Orvet* (*Mœller*), et des bacilles pseudo-tuberculeux (*phléole-Timothée*).

Nous croyons inutile de les rapporter en détails, car elle ne nous ont fourni aucun résultat favorable. Disons seulement que le bacille *équin*, qui est à peine virulent, ou même le plus souvent avirulent pour le cobaye à la dose de 1 milligramme en injection sous-cutanée, s'est montré plus virulent pour cet animal que le bacille bovin utilisé par nous, lorsque nous l'avons fait ingérer à la dose de 1 centigramme.

Les bacilles *aviaires* vivants ou chauffés à 100° ne donnent aucune résistance au cobaye à l'égard de l'ingestion ultérieure de bacilles bovins.

Il en est de même du bacille *pisciaire*, du bacille de l'*orvet* et du bacille de la *phléole*. Ces derniers, introduits dans l'organisme par les voies digestives, se montrent très toxiques. Lorsqu'on les fait absorber à la dose de 1 à 2 centigrammes aux cobayes, ils entraînent une cachectisation rapide et la mort, sans qu'il soit possible de retrouver les microbes vivants dans les organes viscéraux.

CONCLUSIONS

1° Lorsqu'on fait ingérer aux cobayes jeunes ou adultes des bacilles tuberculeux virulents finement émulsionnés, en suivant la technique que nous avons décrite, *ces animaux prennent constamment la tuberculose*. Les lésions qu'ils présentent, à la suite de cette infection par les voies digestives, sont surtout *ganglionnaires* et *pulmonaires :* elles n'intéressent presque jamais la rate ni les autres viscères abdominaux, mais elles s'accompagnent quelquefois de localisations diverses telles que *orchites* ou *arthrites tuberculeuses* et, très fréquemment, d'*adénopathie trachéo-bronchique uni ou bi-latérale ;*

2° Les bacilles tuberculeux tués par la chaleur ou par macération dans l'alcool et les bacilles privés de leur enveloppe ciro-graisseuse sont toxiques pour le cobaye lorsqu'on les fait absorber par le tube digestif ;

3° Les mêmes bacilles traités par diverses substances chimiques ou tués par la chaleur peuvent, lorsqu'ils sont absorbés par le tube digestif à doses minimes et à intervalles suffisamment éloignés, conférer aux cobayes une résistance marquée à l'infection virulente.

Les procédés de traitement qui se sont montrés le plus nettement efficaces dans nos expériences sont :

a). La macération des bacilles pendant 10 jours à l'étuve à 37° dans l'*eau salée à* 10 0/0 ;

b). La macération des bacilles dans l'*iode* (*liqueur de Gram*) ;

c). Le *chauffage* pendant 10 minutes à 100°.

4° L'ingestion d'une dose minime de bacilles chauffés 10 minutes à 100°, suivie, 45 jours après, d'une seconde ingestion d'une dose égale de bacilles chauffés 10 minutes seulement à 65°, assure une résistance encore plus manifeste, qui paraît suffisante pour permettre à un certain nombre de cobayes de supporter impunément, au bout de deux mois, l'absorption par le tube digestif d'une dose de bacilles tuberculeux virulents sûrement mortelle pour les témoins.

DU ROLE DES HELMINTHES,
DES LARVES D'HELMINTHES
Et des larves d'Insectes dans la transmission des microbes pathogènes.

(Avec la planche X.)

PAR M. WEINBERG

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Bien que la fâcheuse influence exercée sur notre organisme par les vers intestinaux ait été de tout temps affirmée par les médecins, ce n'est que récemment qu'on s'est attaché à déterminer le rôle exact que jouent ces parasites dans l'étiologie de certaines maladies infectieuses.

M. Metchnikoff, dans une communication faite à l'Académie de médecine [1], a, le premier, imprimé une nouvelle orientation à l'étude de cette question. Il a émis l'hypothèse que les entozoaires inoculent des microbes pathogènes dans la paroi intestinale et provoquent ainsi des maladies infectieuses. Il insista surtout sur le rôle des parasites intestinaux dans l'étiologie de l'appendicite.

On se rappelle l'opposition que cette théorie a rencontrée dans le monde médical et surtout de la part des chirurgiens. Malgré cela, les nombreuses recherches faites depuis par les cliniciens et les hommes de laboratoire ont apporté des faits précis à l'appui des idées de M. Metchnikoff. Ce savant a exposé les plus importants de ces faits dans quelques articles et dans une conférence faite l'année dernière à l'Institut d'hygiène de Londres [2].

Parmi les partisans de la théorie vermineuse de l'appendicite il faut également citer M. Guiart qui a défendu ses idées dans une série d'articles ainsi que M. R. Blanchard qui a présenté à l'Académie de Médecine, lors de la discussion sur l'appendicite qui a eu lieu l'année dernière, l'ensemble des faits les plus saillants sur la question.

1. *Bulletin de l'Acad. de Médecine de Paris*, 1901, p. 301.

2. ÉLIE METCHNIKOFF, *The new hygiene*. London, William Heinemann, 1906.

Au cours de ces dernières années, nous avons eu l'occasion de réunir un grand nombre d'observations concernant cette question. Nous les avons trouvées à la salle d'autopsie ou dans les pièces qui nous ont été envoyées par des chirurgiens, ou bien encore chez de nombreux chimpanzés et singes inférieurs neufs ou ayant servi aux expériences de M. Metchnikoff.

Pour élargir le champ de nos recherches et apporter le plus de faits précis, nous nous sommes également adressé aux abattoirs de Paris où nous avons pu examiner un nombre considérable d'intestins immédiatement après l'abatage des animaux. Ceci est d'une grande importance pour nos recherches, car certains helminthes, et surtout les vers rubanés, se détachent de l'intestin très rapidement après la mort de leur hôte.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à MM. les vétérinaires Galibert et Vieillard qui ont beaucoup facilité les recherches que nous avons faites à l'Abattoir aux chevaux de Vaugirard. Nous avons également reçu un accueil des plus aimables de MM. les vétérinaires Cartier et Jouet.

Dans ce mémoire, nous exposerons d'abord des observations concernant les parasites qu'on trouve le plus souvent dans le tube digestif de l'homme (oxyure, trichocéphale, ascaride); puis viendront les faits relatifs aux nématodes et aux cestodes que nous avons trouvés chez différents animaux. Nous parlerons également, dans deux autres chapitres, des larves d'helminthes et des larves d'insectes qui peuvent jouer le même rôle que les vers adultes dans la transmission des microbes.

Nous ne citerons au cours de ce travail, que les travaux où le rôle des parasites qui nous intéressent a été mis en évidence par des recherches anatomo-bactériologiques. On trouvera tous les faits cliniques dans les thèses parues récemment sur la question (Bertholet [1], Niclot [2], Guglielmi [3], Desaunais de Guermarquer [4], Andrikidis [5], Ragaine [6]), et surtout dans celles de Roginsky [7] et de Raspail [8].

1. *L'Appendicite parasitaire*, Thèse de Bordeaux, 1904.
2. *Action pathogène de quelques vers intestinaux*, Thèse de Lyon, 1905.
3. Thèse de Lyon, 1905.
4. *L'Appendicite parasitaire*, Thèse de Paris, p. 1905-1906, n° 175.
5. *Étude clinique des troubles morbides attribuables au trichocéphale de l'homme*, Thèse de Paris, 1905-1906, n° 147.
6. *L'Appendicite vermineuse*, Thèse de Paris, 1905-1906, n° 85.
7. *Contribution à l'étude du trichocéphale*, Thèse de Paris, 1906.
8. *Rôle pathogène des helminthes*, Thèse de Paris, 1906.

⁂

Oxyure. — La fixation de ce nématode sur la paroi intestinale et la possibilité de sa pénétration dans les couches profondes est de notion récente.

En effet, tandis que les observations où l'on a constaté la présence de ce ver dans l'intestin sont innombrables, on cite très peu de cas où l'on ait vraiment vu ce ver dans l'épaisseur de la paroi elle-même.

Ruffer [1] a publié un très curieux cas qui montre qu'on peut trouver, dans l'épaisseur du gros intestin, des amas d'œufs d'oxyures. Il s'agit d'un Égyptien de 35 ans, mort de cirrhose du foie et chez lequel on a trouvé, à $0^m,15$ environ de l'anus, une petite tumeur dure, de la grosseur d'une noisette et logée dans l'épaisseur de la paroi intestinale. Deux autres petites tumeurs ont été trouvées à $0^m.08$ environ de l'anus. La muqueuse intestinale au niveau de ces tumeurs était saine. On trouva au centre de chaque tumeur un calcul logé dans la sous-muqueuse. Ces calculs contenaient des œufs d'oxyures et quelques-uns de ceux-ci, des embryons.

Comme les œufs n'ont pu pénétrer d'eux-mêmes dans la paroi intestinale, il est logique d'admettre qu'ils ont été pondus par une ou plusieurs femelles d'oxyures qui ont ensuite regagné le rectum.

D'ailleurs cette interprétation est justifiée par un cas de Froehlich [2] qui a trouvé, dans une petite tumeur du pli interfessier d'un enfant de 11 ans, une soixantaine d'oxyures vivant dans du pus. Il n'y avait pas de communication avec le rectum.

Comme l'a justement remarqué Vuillemin [3], dans ce cas de Froehlich tous les oxyures sont venus de l'intestin. Sur 30 spécimens examinés par cet auteur, il ne s'est trouvé que des femelles. Il serait, en effet, impossible d'admettre que, si la tumeur était due à des œufs de parasites, ceux-ci n'aient donné naissance à aucun mâle.

Vuillemin va plus loin et admet que les oxyures enkystés

1. Note on the lésions produced by *Oxyuris vermicularis*, *British Medical Journal*, 1901, vol. I, p. 208-209.

2. Uber den Befund von auf dem Peritoneum des Cavum Douglassi angewachsenen Oxyuriden, *Centralblatt für Bakt.* 1897.

3. Sur la pénétration des femelles d'*Oxyuris vermicularis* à travers la paroi de l'intestin. *Centralbl. für Bakt. Parasitenk. Originale*, 1902, Bd. XXXII, p. 358-360.

du péritoine (Kolb[1]) viennent également de l'intestin en traversant la paroi. Il est cependant plus probable que les oxyures sont arrivés dans cette région par la voie vaginale.

En effet, dans le cas de Kolb, il s'agit d'une femme ; d'autre part, Schneider[2] a trouvé des oxyures enkystés dans le ligament ovarien. On peut également rapprocher de ces cas l'observation de Marro[3] qui a constaté chez une femme de 34 ans un kyste fibreux, situé au contact des franges salpingiennes de la trompe gauche et contenant de nombreux œufs d'oxyures.

Plus récemment, Edens[4] a trouvé la tête d'un oxyure dans un nodule d'une plaque de Peyer chez un enfant de 7 ans, mort de diphtérie et ayant présenté des lésions de tuberculose primitive de l'intestin.

Plus intéressantes encore sont les constatations de Wagener[5]. Ce dernier a trouvé à l'autopsie d'une fillette de 5 ans, morte de scarlatine, 15 à 20 petits nodules blanc grisâtre, de la grosseur d'une tête d'épingle, dans l'épaisseur de trois plaques de Peyer, à la partie inférieure de l'iléon. Les coupes en série de ces nodules ont montré les parties caractéristiques de l'oxyure. Les parasites ont même été retrouvés dans quelques nodules calcifiés.

Les observations que nous venons de citer prouvent donc suffisamment que l'oxyure est parfaitement capable de pénétrer dans la muqueuse et même dans la sous-muqueuse du gros intestin ou de l'intestin grêle.

Depuis que l'attention des médecins a été attirée sur le rôle des helminthes dans l'étiologie de l'appendicite, on a beaucoup recherché si les oxyures sont, eux aussi, capables de causer cette maladie.

Bien que la présence d'oxyures ait été maintes fois constatée dans l'appendicite, on ne possède encore que fort peu de renseignements exacts sur l'infection de la paroi appendiculaire. Galli-Valerio[6] a trouvé dans un appendice perforé, et dans le

1. *Revue des maladies de l'enfance*, 1897, p. 497-50.
2. *Oxyuris vermicularis* in Beckenperitoneum eingekapselt, *Centralbl. f. Bakt.* Bd. XXXV, n° 4, p. 550-554.
3. *Arch. per le scienze med.*, t. XXV, 1901, n° 2.
4. Ueber *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand, *Centralbl. für Bakt.*, t. XL, Heft IV, p. 449-450.
5. *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand, *Deutsches Archiv für Klin. Med.*, Bd. LXXXI, p. 328-333.
6. *Centralbl. für Bakt. und Parisitenkunde*, XXXIV, p. 350-355.

contenu duquel il y avait un grand nombre d'oxyures, « l'extrémité postérieure d'un parasite mâle, enfilée dans l'épaisseur de la muqueuse ».

Il a trouvé également sur des coupes, dans l'épaisseur de la muqueuse, « des espaces semblables à des perforations entourés d'une zone infiltrée et qui, dans les coupes colorées au bleu, montraient aussi des infiltrations microbiennes ».

Il est bien probable que, dans l'observation de Galli-Valerio, les oxyures sont la véritable cause de l'appendicite, mais la démonstration indiscutable de l'inoculation des microbes dans la paroi de l'appendice par l'oxyure a été donnée par l'étude d'un cas auquel nous avons déjà fait allusion dans une note à la Société de Biologie [1].

Voici le résumé de cette observation que nous avons rédigée d'après les renseignements que le Dr Thevenard a eu l'obligeance de nous fournir :

Maurice M..., âgé de 11 ans, bien portant jusqu'ici, est pris de coliques en revenant de l'école le 1er décembre 1905. Dans la soirée, les douleurs deviennent très violentes ; d'abord irradiées dans l'abdomen, elles se localisent ensuite dans la fosse iliaque droite. En même temps, la température s'élève très rapidement et atteint 40°. Le malade a même du délire. La nuit suivante, on observe un abaissement de la température et une amélioration de l'état général, bien que les douleurs ne diminuent pas d'intensité.

Le 2 décembre, les douleurs s'apaisent, mais la température se maintient à 40°. Le médecin traitant diagnostique une fièvre typhoïde. L'enfant est vu par un autre médecin le lundi 4 janvier au soir. A ce moment, il a 41°, le pouls est à 130, il a du délire et porte sa main sur la fosse iliaque en se plaignant. L'examen est douloureux et l'enfant s'y refuse. L'abdomen est plat et rétracté comme dans la méningite. On pense à une appendicite suraiguë et on fait transporter le petit malade dans une maison de santé à 11 heures du soir. Le Dr Thévenard voit le malade le lendemain matin et constate tous les signes que nous venons d'indiquer. De plus, il apprend que la température s'est élevée pendant la nuit à 41°,6 et que le délire a été des

1. Fixation des Helminthes sur la muqueuse intestinale. *C. R. de la Soc. de Biologie*, séance du 12 mai 1906.

plus violents. L'enfant montre lui-même au chirurgien le point de Mac Burney, en disant qu'il souffre en cet endroit. L'abdomen n'est pas douloureux dans les autres régions. Cependant la pression dans la fosse iliaque gauche éveille la douleur à droite, absolument comme si l'on pressait directement sur la fosse iliaque de ce côté. Le chirurgien apprend en outre des parents que l'enfant n'a eu ni gaz ni selles depuis 2 jours et qu'il a présenté des vomissements verdâtres lesquels ont cessé. Les nausées n'en persistent pas moins.

Les pupilles sont très dilatées, les narines et les lèvres très sèches. Facies anxieux, grippé. La langue est rouge, desquamée, mais non sèche. Les urines sont très rares, à peine 50 à 60 grammes depuis la veille au soir. Le pouls est à 130, relativement bien frappé. Pas de céphalée, pas de signe de Kernig.

Le diagnostic d'appendicite est confirmé et l'on décide d'opérer immédiament.

A l'opération, on trouve l'appendice très congestionné, sans adhérences. Le péritoine de l'appendice ainsi que celui du cæcum est dépoli. On pratique la résection de l'appendice.

Le soir, la température s'abaisse à 38°,5, le délire réapparaît la nuit. Dans la journée du lendemain, le délire est moins violent, mais les urines deviennent de plus en plus rares, le pouls augmente de fréquence (130-140); la température à la fin de la journée est de 40°. La nuit, le délire augmente et l'enfant succombe dans le coma.

Examen macroscopique. — L'appendice qui nous a été envoyé par M. Thévenard est régulièrement cylindrique, long de 8 centimètres, congestionné. Ouvert en long, il montre dans sa cavité une petite quantité de mucus, et, vers un centimètre et demi de son extrémité libre, un petit nématode embrochant la muqueuse appendiculaire, du côté du bord mésentérique. Ce ver est fixé très solidement, au point que l'on n'arrive pas à le détacher par de légères tractions exercées sur chacune de ses deux extrémités émergeant de la muqueuse.

L'appendice est plus congestionné au niveau du nématode.

L'étude ultérieure nous a montré que ce nématode était un oxyure femelle.

Examen histologique. — Nous avons pratiqué des coupes histologiques de l'appendice passant au point de fixation du

ver. L'étude de ces coupes nous montre que le ver en question a embroché la muqueuse de l'appendice en pénétrant profondément, après avoir traversé les glandes dans le chorion, et même dans la couche superficielle de la sous-muqueuse.

Il est facile de se convaincre que ce parasite a réellement embroché la muqueuse et qu'il n'est pas logé dans une cavité préexistante et qui devrait son origine à un processus d'ulcération.

En effet, nous retrouvons le tissu du chorion dans la boucle formée par le corps du ver.

Tout autour du parasite, le chorion et la couche interne de la sous-muqueuse sont fortement enflammés. Lorsqu'on examine ce point à l'immersion, on voit autour du parasite des polynucléaires et, au milieu d'eux, un grand nombre de bacilles colorés par la méthode de Gram. Ces microbes sont probablement des anaérobies, ce qui concorde assez bien avec l'évolution très grave de cette appendicite.

La muqueuse est presque partout ulcérée à ce niveau; on ne trouve que quelques glandes conservées au niveau de la pénétration de l'oxyure dans la paroi appendiculaire.

D'autre part, on voit des traînées de lymphangite qui partent du foyer inflammatoire périparasitaire pour s'enfoncer dans la sous-muqueuse; on retrouve la lymphangite dans la sous-séreuse, où les vaisseaux sanguins sont très congestionnés.

La sous-séreuse est épaissie et présente, par places, de petites adhérences qui montrent que cet enfant n'en était pas en réalité à sa première crise d'appendicite.

Lorsque l'on étudie les coupes passant aussi bien au niveau du parasite que dans la région située au-dessus, on constate que le maximum des lésions se trouve au point de fixation de l'oxyure.

Dans d'autres régions de l'appendice, la muqueuse a conservé ses glandes; son chorion est parfois légèrement enflammé, et on retrouve çà et là quelques traînées de lynphangite dans la sous-séreuse.

Nous avons examiné également, au point de vue de la présence des œufs d'helminthes, tout le mucus que nous avons trouvé dans la cavité de l'appendice, et, dans une de nos préparations, nous avons vu un seul œuf de trichocéphale; le mucus ne contenait pas d'œufs d'oxyures.

La planche jointe à ce mémoire (Pl. X) montre très bien les lésions que nous venons de décrire. On voit que l'oxyure (fig. 1, *a*) occupe les deux tiers de l'épaisseur de la muqueuse. On se rend exactement compte de l'infiltration leucocytaire et microbienne qu'on trouve autour de la cuticule du parasite en question.

Cette observation prouve que l'oxyure peut jouer un rôle très important dans l'étiologie de certains cas d'appendicite.

Il est également capable de produire des ulcérations des autres parties du gros intestin ainsi que de l'intestin grêle, comme nous l'avons constaté chez deux chimpanzés.

L'un d'eux (mort au mois de janvier 1906) a présenté un grand nombre d'ulcérations de l'intestin grêle, sur lesquelles étaient fixés des oxyures. Les plaques de Peyer ont été hypertrophiées. L'animal n'a pas présenté d'autres lésions.

Un autre chimpanzé, mort de pleuro-pneumonie, hébergeait également un nombre considérable d'oxyures. Nous avons trouvé dans son intestin grêle, une série d'ulcérations hémorragiques au niveau du duodénum, de la portion terminale de l'iléon ainsi que dans le cæcum. Détail curieux, nous avons trouvé au niveau de ces lésions beaucoup d'oxyures renfermés dans les caillots sanguins ou fixés sur la muqueuse, et nous n'avons presque pas trouvé de parasites dans les régions saines de cet intestin.

Ainsi, les faits mentionnés par nous dans ce premier chapitre montrent très nettement que l'étiologie de l'appendicite et de certaines lésions de l'intestin peut, dans certains cas, être rapportée à l'intervention de l'oxyure.



Trichocéphale. — On a beaucoup écrit sur le trichocéphale. Cependant, lorsqu'on cherche dans ces travaux des faits précis sur la fixation de ce nématode et sur son rôle dans la transmission des agents infectieux, on est étonné de la pénurie des données exactes.

Depuis la découverte du trichocéphale, tous les helminthologistes qui se sont occupés de la question ont constaté sa fixation sur la muqueuse intestinale.

Cela n'a pas empêché Wichmann[1] de prétendre « que jamais on ne constate de lésions ni de solution de continuité de l'épithélium intestinal à l'endroit même où les trichocéphales paraissent être fixés ; que jamais on ne trouve le ver ayant pénétré dans l'intérieur de la muqueuse ».

Il y a quelque chose de vrai dans les constatations de Wichmann. En effet, lorsqu'on examine la muqueuse d'un gros intestin dans lequel se trouvent des trichocéphales, on peut rencontrer un certain nombre de ces parasites qui paraissent fixés sur la muqueuse, mais dont l'extrémité antérieure est en réalité enfouie dans le mucus ou bien cachée sous un pli de la muqueuse. Une traction très faible exercée sur l'extrémité postérieure de ces parasites les détache très facilement. Mais il est impossible d'en conclure que le trichocéphale ne se fixe pas sur la muqueuse. Il y a des trichocéphales qui sont si bien fixés qu'en essayant de les détacher on arrive plutôt à séparer le tronçon terminal de leur partie antérieure.

Si Wichmann n'a pas pu trouver sur les coupes en série la pénétration du trichocéphale dans la paroi intestinale, c'est qu'il a été mal servi par la chance.

En réalité, le trichocéphale se fixe toujours sur la muqueuse. Tantôt, il embroche la muqueuse et fait émerger son extrémité céphalique à petite distance du point d'entrée, tantôt, l'ayant pénétrée obliquement, il enfonce sa partie antérieure parallèlement à la muqueuse.

On peut se rendre compte de cette dernière disposition sur la figure 3 de la planche jointe à ce travail. On y voit en *d. d'*, une série de coupes du même parasite ayant pénétré superficiellement la muqueuse.

Parfois, ce parasite creuse un véritable tunnel dans l'épaisseur de la muqueuse et sa portion effilée finit par être ainsi cachée à la vue.

M. le Dr Walther a observé un cas de ce genre. Nous donnons ici (fig. 1) le dessin de l'appendice en question que nous avons fait reproduire d'après l'aquarelle que l'éminent chirurgien a bien voulu mettre à notre disposition.

Cet appendice a été réséqué chez une femme de 38 ans au

1. *Ueber das Verhalten des Trichocephalus zu Darmscheimhaut. Inaug. Dissert.* Kiel, 1889.

cours d'une hystéropexie [1]. En le fendant suivant son bord mésentérique, M. Walther a trouvé un trichocéphale libre en partie, mais plongeant en une sorte de tunnel de 5 à 6 millimètres dans l'épaisseur de la muqueuse.

On voit en *b* la muqueuse soulevée par le parasite en question dont la tête émerge en *c*.

La figure 2, qui représente le cæcum d'un singe dont l'histoire anatomo-clinique sera donnée plus bas, rend exactement

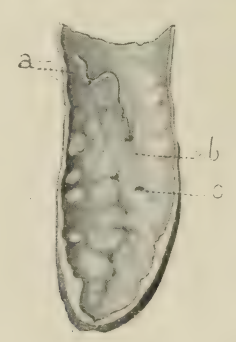


Fig. 1.

Appendice opéré par le Dr Walther. On voit en *a* la partie postérieure d'un trichocéphale dont l'extrémité céphalique (*c*) vient de parcourir un petit tunnel de 6 millimètres que le parasite avait creusé dans la couche superficielle de la muqueuse.

compte de la façon dont le trichocéphale pénètre dans la paroi intestinale. Le plus souvent, le ver enfonce dans la muqueuse une petite partie de son extrémité céphalique (*a*, *a'*, *a''*). Dans certains cas cependant, on peut constater très nettement que toute la partie effilée est enfoncée dans la paroi intestinale, comme on peut le voir en *b*, *b'*. Ailleurs, les trichocéphales se logent en masse entre les plis de la muqueuse et c'est alors qu'on peut trouver beaucoup de ces parasites dont l'extrémité antérieure, couverte par du mucus, paraît enfoncée dans la muqueuse, tandis qu'en réalité elle est cachée par le pli de cette dernière.

Le trichocéphale pénètre dans la sous-muqueuse et même dans les couches musculaires. Cependant, nous devons ici faire une restriction. Nos recherches nous permettent de croire que ce nématode ne pénètre jamais d'emblée dans les couches profondes de la paroi intestinale. Il pénètre d'abord dans la

1. M. Walther a communiqué ce cas à la Société de chirurgie. *Bull. Soc. de chirurgie de Paris*, 1905, XXXI, 355.

muqueuse; s'il provoque autour de lui un foyer inflammatoire.

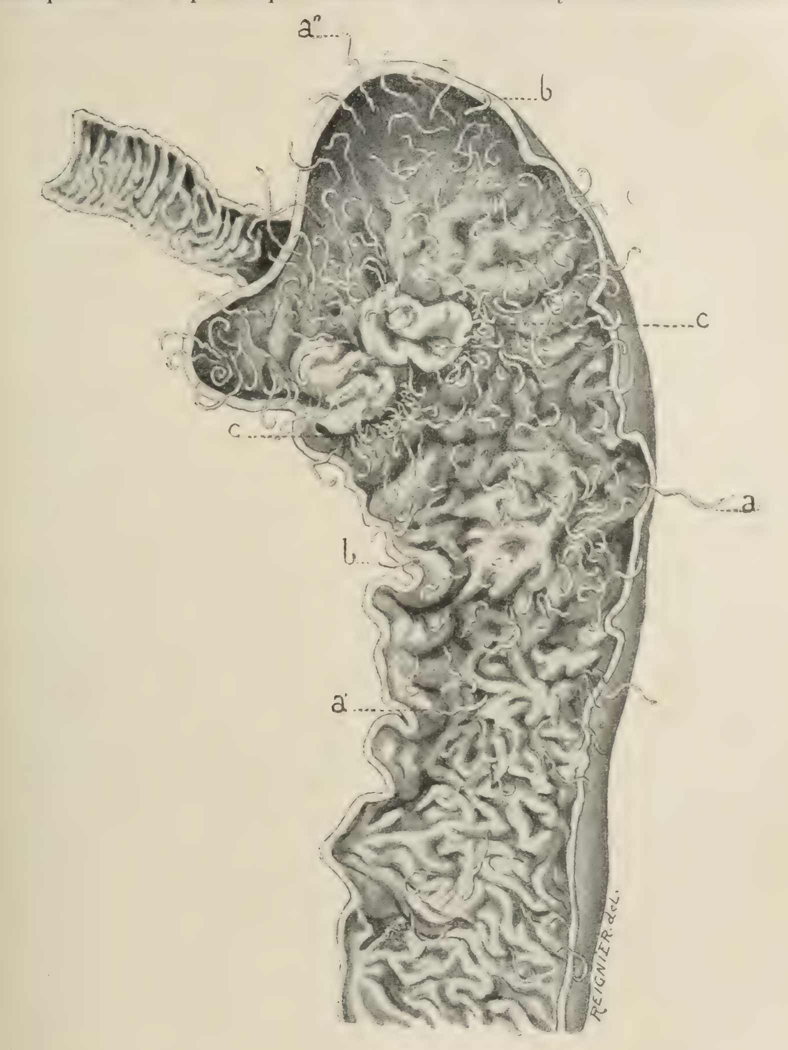


Fig. 2.

Trichocéphaliase (macaque cynocéphale). — Cæcum grandeur naturelle. En *a*, *a'*, *a"*, on voit des trichocéphales fixés sur la muqueuse intestinale par l'extrémité de leur partie effilée ; *b*, *b'*, trichocéphales dont toute la portion céphalique a pénétré dans la muqueuse ; *c*, *c'*, des paquets de trichocéphales amassés entre les plis de la muqueuse.

Ce dessin ne représente qu'une partie des trichocéphales trouvés dans le cæcum ; les deux tiers au moins de ces vers ont été enlevés pour la clarté du dessin.

une suppuration, la dissociation des tissus, amenée par ces pro-

cessus pathologiques, peut lui permettre de se frayer un chemin à travers la sous-muqueuse et les couches musculaires.

La figure 3, Pl. X, montre un de ces cas où l'on trouve la partie antérieure du trichocéphale enfoncée jusqu'au niveau des couches musculaires dissociées par la suppuration.

En pénétrant dans la muqueuse intestinale, le trichocéphale introduit dans son épaisseur les microbes qui se trouvent sur la surface de son corps. Lorsque ces microbes ne sont pas virulents, ils sont immédiatement englobés par les leucocytes de la région. C'est pourquoi la muqueuse transfixée par ce nématode est souvent saine ou ne présente qu'une infiltration leucocytaire insignifiante.

Lorsque les microbes inoculés par le parasite en question sont virulents, un foyer inflammatoire microbien se forme autour de lui. Et c'est ainsi que débutent les lésions intestinales dues à l'intervention du trichocéphale, quel que soit le siège de ces dernières.

Girard[1] a étudié un appendice enlevé à une fillette de 8 ans opérée d'urgence pour une péritonite. Cet appendice, paraissant sain dans son ensemble, contenait vers son extrémité libre deux trichocéphales. L'extrémité antérieure de l'un de ces parasites avait pénétré dans la muqueuse. A cet endroit, on a constaté la présence d'une zone enflammée où, au milieu des leucocytes mono et polynucléés, se trouvait toute une flore bactérienne dans laquelle on reconnaissait de nombreux streptocoques, des bacilles ramifiés se colorant par le Gram et de petits coccobacilles se décolorant par cette méthode.

Cette observation montre très nettement que le trichocéphale, en pénétrant dans la muqueuse, peut introduire des microbes pathogènes et créer ainsi une véritable infection locale.

Depuis la publication de cette observation, nous avons eu souvent l'occasion de trouver des lésions microbiennes autour de trichocéphales fixés sur la muqueuse soit au niveau de l'appendice, soit au niveau du cæcum, soit enfin sur un autre point du gros intestin[2].

Vigouroux et Collet[3] ont également trouvé une réaction

1. *C. R. de la Société de Biologie*, Paris, 1901, p. 265.
2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904.
3. *Bull. et mémoires de la Soc. anatomique de Paris*, 1905, p. 270-274.

inflammatoire autour d'un trichocéphale fixé sur la muqueuse appendiculaire d'un idiot mort à l'asile de Vaucluse.

Il était important d'établir en principe que le trichocéphale est capable d'introduire des microbes dans la paroi intestinale. Ceci étant établi, on conçoit facilement que la nature de l'infection dépende du microbe que le hasard a mis sur la surface du parasite qui s'enfonce dans l'épaisseur de la muqueuse.

Malheureusement, les faits précis montrant cette possibilité manquent encore. Il existe une observation d'appendicite tuberculeuse [1] dans laquelle on a trouvé des trichocéphales fixés sur la muqueuse ; dans un cas d'actinomycose cæcale [2], ces helminthes étaient libres dans la cavité de l'organe. Nous ne pouvons cependant affirmer le rôle de ces parasites dans l'étiologie de ces deux affections.

Les helminthes, et les trichocéphales en particulier, sont très fréquents chez le chimpanzé [3] et les singes inférieurs. Ayant eu l'occasion d'autopsier un grand nombre de ces animaux, nous avons été plusieurs fois surpris de ne trouver à l'examen de leurs organes aucune lésion apparente. Ces cas coïncident justement avec la présence des trichocéphales dans le gros intestin.

Nous avons pu étudier en détail quelques-uns de ces cas et arriver à la conviction que nos animaux étaient morts d'infection à colibacilles inoculés par les trichocéphales.

La figure 2 représente le cæcum d'un macaque cynocéphale mort le 26 avril 1906, après avoir présenté pendant deux jours une véritable élévation de température.

A l'autopsie, pratiquée sur l'animal expirant, nous avons constaté une congestion très marquée de tous les organes.

Le cæcum et le colon ascendant renfermaient un nombre considérable de trichocéphales. Des centaines de ces parasites étaient fixés sur la muqueuse intestinale. On ne trouvait pas d'ulcérations à l'œil nu, mais l'examen histologique révélait, aux points de fixation de certains trichocéphales, des foyers inflammatoires s'étendant profondément dans l'épaisseur de la paroi

1. Dodeuil, *Tuberculose et appendicite*, Thèse de Paris, 1906.
2. Schiller, *Beitrage zur Klin. chirurgie*, 1902, p. 197.
3. Appendicite et vers intestinaux chez le chimpanzé, *C. R. de la Société de Biologie*, 1906, p. 661.

cæcale, et dans lesquels, au milieu des polynucléaires, on trouvait des colibacilles. Le même microbe a été trouvé en culture pure dans les milieux ensemencés avec du sang de l'animal mourant.

Il nous semble rationnel d'admettre que ce singe a succombé à une infection dont l'agent pathogène a été introduit par le trichocéphale dans la paroi intestinale.

Nous sommes d'autant plus autorisé à faire cette hypothèse que nous avons observé deux cas semblables, l'un chez le chimpanzé, l'autre chez un bonnet chinois (*Macacus sinicus*). Cette dernière observation est particulièrement intéressante, car ce singe, mort de septicémie à colibacilles, ne renfermait dans son intestin qu'un seul trichocéphale. Ce dernier s'était fixé sur la muqueuse cæcale où il a provoqué un petit foyer microbien.

Ce cas prouve que la présence d'un seul parasite intestinal peut être fatale pour l'organisme animal.

Nous revenons volontairement sur notre premier cas de septicémie à colibacilles pour insister sur ce point, que nous avons trouvé des lésions microscopiques très importantes au point de fixation des trichocéphales, là où à l'œil nu nous n'avons pu soupçonner l'existence d'un processus pathologique.

En effet, plusieurs auteurs (Becker, Morsasca, Burcharot, Moosbrugger, Sandler, Letulle et Lemierre) ont publié des cas d'anémie très grave chez des malades porteurs d'un nombre plus ou moins considérable de trichocéphales. N'ayant pas trouvé de lésions au point de fixation de ces nématodes sur la muqueuse intestinale, et s'appuyant parfois sur l'absence de microbes dans le sang du malade, ils ont conclu que l'anémie en question était due à une toxine sécrétée par le trichocépale.

Nous ne voulons pas soulever dans ce travail la discussion sur l'existence d'une toxine vermineuse. Nous tenons seulement à faire remarquer que si l'on avait étudié, sur des coupes histologiques, tous les endroits de la muqueuse intestinale, sur lesquels on avait constaté la fixation des trichocéphales, il y a bien des chances qu'on eût trouvé l'origine microbienne de quelques-uns de ces cas d'anémie.

Faut-il admettre que le trichocéphale joue un rôle important

1. *Bull. de l'Acad. de Medecine*, 1904, p. 217.

dans l'étiologie de la fièvre typhoïde? On sait que déjà Davaine avait été très surpris de la fréquence extrême de ces nématodes dans l'intestin des typhiques. Il a même affirmé qu'on les y trouve en plus grand nombre que dans toutes les autres maladies.

Plus récemment Guiart[1], en qui l'origine vermineuse des maladies infectieuses a trouvé un fervent partisan, a attiré de nouveau l'attention du monde médical sur cette question. D'autres savants ont trouvé également des trichocéphales dans les selles typhiques. Cependant, nous ne possédons pas encore de données rigoureusement scientifiques qui nous permettent de nous prononcer d'une façon définitive.

Nous avons essayé[1] de reproduire expérimentalement la fièvre typhoïde chez les singes porteurs de trichocéphales. Un de ces singes s'est infecté, mais nous croyons que les trichocéphales ont été tout à fait étrangers à la maladie. Nous reparlerons de cette observation plus loin, à propos des cestodes.

Ascaride; Physaloptère. — Il existe fort peu de données sur le mode de fixation de l'ascaride sur la muqueuse intestinale.

Guiart a trouvé, dans l'estomac d'un dauphin, de nombreux *Ascaris conocephalus* Krabbe. « Plusieurs de ces parasites étaient fixés sur la muqueuse même de l'estomac et le bouton céphalique, profondément incrusté dans cette muqueuse, s'y était taillé une sorte de cupule assez profonde, présentant des aspérités suffisantes pour permettre à l'animal de s'y fixer solidement avec les dents. »

Nous avons pu également constater la fixation d'un ascaride sur la muqueuse duodénale d'un singe, immédiatement au dessous du pylore (fig. 3, a). Ce parasite était légèrement fixé; nous l'avons facilement détaché par une légère traction. L'examen histologique a montré à ce niveau une ulcération hémorragique.

D'autres ulcérations hémorragiques se trouvaient au niveau du duodénum où nous avons constaté la présence d'un autre ascaride, libre celui-là, dans la cavité intestinale.

On ne trouve pas, dans la littérature médicale, d'observation de lombricose avec fixation de ce nématode sur l'intestin. A ce

1. Fièvre typhoïde expérimentale chez un singe porteur de vers intestinaux. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1906, p. 648.

point de vue, la note que nous a adressée notre ami le docteur Fontoynot, professeur à l'école de Médecine de Tananarive, présente un grand intérêt.

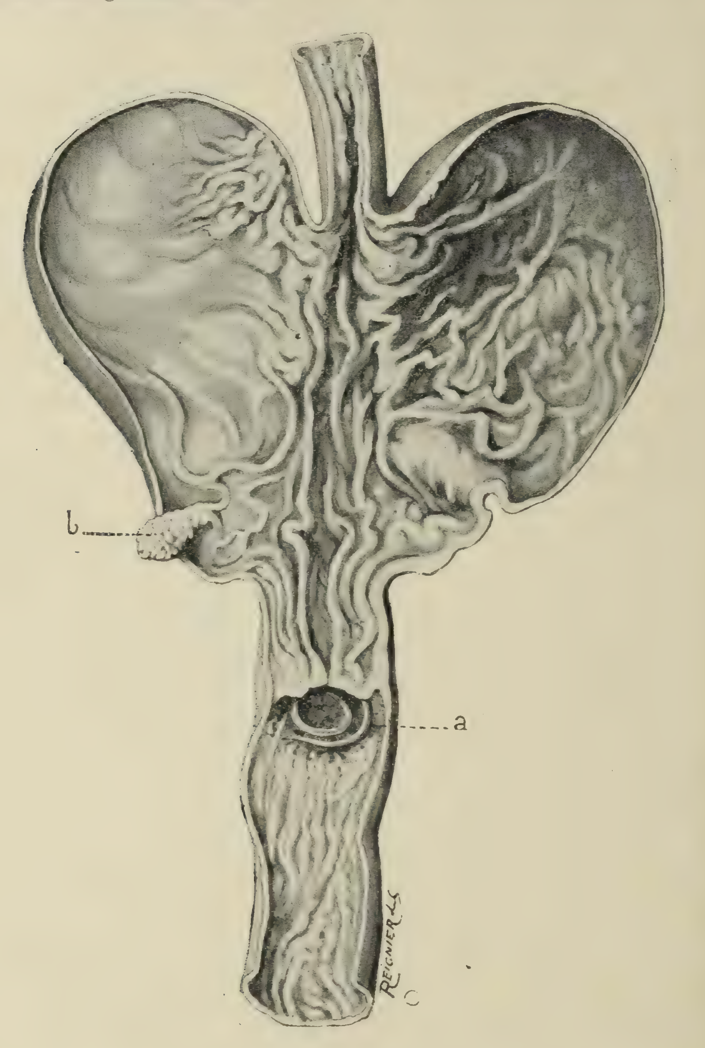


Fig. 3.
Estomac et portion initiale du duodénum (*Macacus cynomolgus*) : *a*, petite ulcération hémorragique sous-pylorique sur l'une desquelles était fixé l'ascaris qu'on voit à ce niveau ; *b*, polype pédiculé de l'estomac.

Voici sa note :

« Les ascarides sont d'une fréquence extrême à Tananarive;

aussi la lombricose doit-elle y être considérée comme la cause de quantité d'accidents très variés, les uns bénins, les autres graves. Parmi les accidents graves, on peut signaler les convulsions des enfants, l'obstruction intestinale, et des phénomènes appendiculaires : je dis phénomènes appendiculaires, car je n'ai jamais vu chez un Malgache (sauf une fois) les accidents graves si fréquents en Europe. Dans ce cas (le seul que j'aie opéré), il ne m'a pas été possible de savoir si le malade avait rendu, avant ou après l'opération, des lombrics. Néanmoins, chaque fois que j'ai vu un indigène présenter du météorisme abdominal, de la péritonite légère, ou mieux du *péritonisme* avec localisation manifeste de la douleur au point de Mac Burney et empâtement dans la fosse iliaque droite, la santonine prise à la dose de 0gr,15 a toujours fait évacuer un plus ou moins grand nombre d'ascarides et, par ce fait, a toujours amené la cessation de tous les phénomènes appendiculaires.

« Aux autopsies, on rencontre pour ainsi dire toujours des lombrics dans la cavité intestinale. Deux fois, il m'est arrivé d'en voir un assez fortement fixé sur la muqueuse pour qu'il fût nécessaire d'exercer une légère traction lorsque je voulus l'en détacher. »

Ainsi, il est possible de trouver des ascarides fixés sur la muqueuse intestinale, non seulement chez les animaux, mais aussi chez l'homme.

Cependant, malgré l'observation de Guiart, malgré le cas observé par nous-même, malgré les constatations de Fontoynot, il n'a pas encore été fourni une preuve péremptoire que l'ascaride est capable de se fixer sur la muqueuse saine.

Les observations de Guiart et de Fontoynot manquent de contrôle histologique; dans notre cas, nous avons trouvé une ulcération déjà formée. On peut donc objecter que cette fois comme les autres l'ascaride a profité d'une petite porte d'entrée préexistante pour se faufiler dans l'épaisseur de la paroi intestinale.

D'autre part, il y a un fait qui parle contre la possibilité de la fixation de ces nématodes sur la muqueuse intestinale saine.

On sait que le cheval présente très souvent dans son intestin grêle un nombre considérable d'ascarides. L'*Ascaris megalace-*

phala du cheval atteint souvent des dimensions énormes et son bouton céphalique est armé de trois grosses lèvres. Malgré cela, il n'a pas encore été possible de trouver chez le cheval un ascaride fixé sur l'intestin.

C'est Faure et Marotel[1] qui ont attiré l'attention sur ce fait. Un fragment d'intestin grêle examiné par eux contenait 230 ascarides, dont aucun n'était fixé à la paroi intestinale. D'autre part, on ne trouvait aucune trace de morsure sur la face interne de l'intestin à ce niveau.

Nous avons examiné un grand nombre d'intestins grêles de chevaux, immédiatement après leur abatage et nous pouvons confirmer l'opinion de ces auteurs.

Voici deux faits des plus caractéristiques.

Un cheval tué devant nous contenait dans son intestin grêle un grand nombre d'ascarides.

Le propriétaire du cheval, assistant à l'abatage, voulut bien nous céder tout l'intestin. Nous ouvrîmes avec précaution l'intestin grêle, tout chaud encore, c'est-à-dire un quart d'heure environ après son extraction de l'abdomen, et nous y comptâmes 334 ascarides. La muqueuse intestinale était absolument intacte. Dans un seul endroit nous trouvâmes une petite tâche hémorragique saillante rappelant une morsure d'helminthe.

Une autre fois, nous avons étudié dans les mêmes conditions un intestin grêle de cheval, dans lequel nous avons trouvé 752 ascarides.

Ici encore, la muqueuse intestinale était absolument intacte.

Tous ces faits parlent contre la fixation des ascarides sur la muqueuse intestinale saine.

Cependant, ce nématode doit jouer dans certains cas un rôle effectif dans l'étiologie des lésions intestinales. Les observations où la présence de ces nématodes coïncident avec les lésions du tractus intestinal sont déjà très nombreuses.

Il y a des observations d'appendicites à l'origine desquelles l'ascaride n'a certainement pas été étranger.

Ainsi, Aldo Castellani a trouvé, à l'autopsie d'une jeune fille de 14 ans (faite peu d'heures après la mort), un appendice congestionné, couvert par places d'exsudat fibrineux, dur au

1. Sur un mécanisme de l'action pathogène chez quelques Helminthes. *Société des Sciences vétérinaires de Lyon*. Séance du 25 mai 1902, p. 142-148.

toucher, et semblant contenir un corps cylindrique. L'appendice ouvert a montré un ascaride ayant pénétré à moitié dans sa cavité. Ce ver était si fortement serré dans la cavité appendiculaire qu'on n'arrivait pas à le retirer par des tractions. En comprimant l'appendice vers la base, on fit sortir un peu de liquide purulent entre la paroi de l'appendice et le ver. Ce pus contenait seulement du coli.

Un autre cas semblable est publié par Kelly et Hurdon dans leur traité sur l'appendice[1]. Cette fois, l'ascaride a été trouvé dans un appendice enlevé chirurgicalement.

Nous avons également observé la présence d'un gros ascaride dans l'appendice d'un chimpanzé. Cet appendice présentait des lésions subaiguës très nettes[2].

Si l'ascaride joue un rôle quelconque à l'origine de certaines lésions intestinales, comment expliquer son mode d'intervention ?

L'ascaride ne se fixe pas sur la muqueuse saine, parce qu'il ne se nourrit pas du sang de son hôte. Pour s'en convaincre, on n'a qu'à étudier systématiquement le contenu intestinal de ce nématode. Tandis que l'intestin du sclérostome contient presque toujours des globules rouges désagrégés, on trouve tout à fait exceptionnellement ces derniers dans le tube digestif de l'ascaride du cheval. Ceci montre que ce parasite se nourrit des aliments qu'il trouve dans le canal intestinal lui-même.

Mais, dans des conditions exceptionnelles qu'il faudra établir, il mord la muqueuse en y provoquant une congestion locale assez intense. Cette morsure peut être le point de départ d'un foyer inflammatoire d'où peut résulter une ulcération.

Profitant d'une ulcération, l'ascaride dont la force est grande peut s'y enfoncer avec sa tête et agrandir ainsi cette ulcération.

L'ascaride profite, en effet, de la moindre solution de continuité pour se frayer un chemin à travers la paroi intestinale.

A ce point de vue, l'observation publiée dernièrement par Rabetz[3] est très curieuse.

Il s'agit d'un enfant de 4 ans auquel on avait été obligé de suturer une anse de l'intestin grêle.

1. A. Kelly and E. Hurdon, *The vermiform appendix and its diseases*. 1905.

2. Appendicite et Vers intestinaux chez le Chimpanzé. *C. R. S. de Biologie*, 1906, p. 661.

3. Sortie des lombrics à travers la paroi de l'intestin grêle et la paroi abdomi- *Roussky Wratch*, 1906, n. 24, p. 732-33.

La paroi intestinale n'avait pas été complètement fermée. Lors du premier pansement, on a trouvé une cuillerée de pus au niveau de la plaie.

Au second pansement, on a été surpris de constater, sous le tampon, la présence d'un ascaride de 4 centimètres environ.

Du 24 avril au 19 mai, on a trouvé sous différents pansements sept gros ascarides.

Cette observation montre que l'ascaride est capable de forcer les deux lèvres d'une suture et de passer ainsi à travers la paroi intestinale.

C'est comme cela aussi qu'il faut probablement expliquer l'origine de toutes les perforations de l'intestin attribuées aux ascarides.

Ce sont surtout les vétérinaires qui ont décrit ces cas (Ginieis [1], Desoubry [2], Barthelemy [3].)

M. Bucquoy, de l'Académie de médecine de Paris, nous a également dit que lorsque, jeune médecin des hôpitaux, il remplaçait Grisolle à l'Hôtel-Dieu, il a trouvé dans une autopsie un ascaride ayant traversé à moitié la paroi de l'intestin grêle au voisinage du cæcum. A l'œil nu, la muqueuse paraissait saine autour du ver en question. Malheureusement, les coupes histologiques n'ont pas été faites au niveau de la perforation intestinale.

Il arrive parfois que les ascarides sont si nombreux qu'ils forment un peloton qui distend fortement, en un point, la paroi intestinale. Dans ce cas, la paroi de l'intestin grêle présente toujours des lésions très intenses et peut même être le siège de nombreuses perforations, comme dans l'observation suivante que nous devons à M. le Dr Broquet, médecin-major des troupes coloniales :

« Cas de mort suspecte et autopsie du cadavre d'un enfant de 4 ans, pratiquée sur réquisition de l'autorité judiciaire de l'île de la Réunion 24 heures après la mort (janvier 1905).

« Au dire des parents, l'enfant jusque-là bien portant, aurait été pris assez brusquement de nausées, puis de vomissements d'abord alimentaires, puis verdâtres, de douleurs abdominales

1. *Bulletin de la Société centrale de méd. vétérinaire*, Paris, 1903, p. 158-164.

2. *Recueil de médecine vétérinaire*, 1905, p. 164-165.

3. *Bulletin de la Loc. centrale de méd. vétér.* 1905, p. 278-281

assez vives, n'aurait pas eu de fièvre, pas de diarrhée, et serait mort « comme empoisonné ». Avant sa mort, pendant l'agonie, il aurait rendu des vers intestinaux.

« *Examen du cadavre.* — Présence d'écume et de liquide séro-sanguinolent à l'orifice des narines et aux commissures labiales. Ventre peu ballonné. Aucun autre signe particulier.

« *Examen extérieur des viscères.* — Rien d'anormal.

« *Ouverture du tube digestif.* — On note dans l'estomac la présence d'un lombric. Dans l'intestin grêle (jejunum), on trouve une *pelote* constituée par *11 lombrics enchevêtrés intimement.* Ce bouchon obture l'intestin qui présente, *au-dessus du barrage,* une *certaine dilatation.* Dans cette portion dilatée, on constate quelques ecchymoses et 2 perforations. Dans chaque perforation est engagé 1 lombric sur une longueur de 3 à 4 centimètres

« En retirant ces lombrics, on constate que ces perforations ont exactement le diamètre du corps du ver.

« Au-dessous du barrage, les 2 parois intestinales sont accolées l'une à l'autre, et ni l'intestin grêle ni le gros intestin ne renferment de matières fécales.

« Le long de l'intestin grêle on rencontre, échelonnés à des distances variables, une dizaine de lombrics.

« Les autres viscères ne présentent aucune lésion.

« En conséquence, le rapport médico-légal conclut à la mort par occlusion intestinale d'origine vermiculaire. »

Nous voulons joindre à ce chapitre quelques lignes à propos des observations que nous avons faites sur les lésions provoquées par un autre nématode, le *Physaloptère.*

Nous avons maintes fois constaté la présence de ce nématode dans l'intestin du chimpanzé et dans celui des cercopithèques.

La figure 4 montre l'estomac d'un macaque dans lequel on trouve de nombreuses taches hémorragiques et, en un point, un physaloptère solidement fixé sur la muqueuse gastrique.

Nous avons pratiqué des coupes de l'estomac à l'endroit même où le parasite a fixé sa tête sur la muqueuse ; ces coupes sont très nettes et permettent de constater que le parasite a pénétré obliquement et profondément dans la muqueuse en la dilacérant. La tête touche en un point à la *muscularis mucosæ.*

Les glandes du voisinage, comprimées par la tête du physaloptère, sont tassées et ne montrent plus leur lumière. On ne



Fig. 4.

Estomac de *macacus cynomolgus*. — En *a* se trouve un nématode (genre Physaloptère) fixé sur la muqueuse gastrique.

b, un polype sessile.

c, *c'*, taches hémorragiques.

voit pas d'infiltration leucocytaire ni de microbes à ce niveau. Cela montre que le parasite a pénétré dans une muqueuse absolument saine et que dans ce cas il n'a pas introduit avec lui de microbes pathogènes.

On peut voir ces détails sur la figure 5 qui représente une coupe histologique passant au point de fixation de la tête du parasite sur la muqueuse gastrique.

Ce nématode peut se fixer sur la muqueuse parfaitement saine.

Dans un autre cas, nous avons trouvé, dans l'estomac d'un macaque javanais, plusieurs physaloptères dont un fixé sur la muqueuse gastrique. Cette fois, nous avons constaté au niveau de son insertion la prolifération adénomateuse des glandes gastriques.

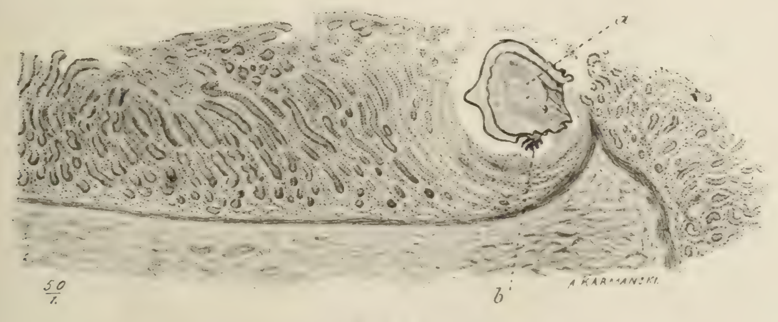


Fig. 5.

Coupe histologique de la muqueuse gastrique de *Macacus cynomolgus* (le même que dans la figure précédente), — passant au niveau de la fixation de la tête du Physaloptère, qu'on voit en *a*.

b. lèvre trilobée caractéristique : on voit que la tête du parasite a pénétré profondément dans la muqueuse et qu'elle touche en un point la *muscularis mucosae*.

Les glandes qui se trouvent sur chaque côté de la tête du parasite sont tassées, comprimées.

Enfin, nous avons pu étudier un cas très curieux d'appendicite chez le chimpanzé, où deux jeunes physaloptères étaient fixés sur deux ulcérations hémorragiques de la muqueuse appendiculaire. Il est bien probable que ces nématodes, en se fixant sur la muqueuse de l'appendice, ont inoculé le microbe qui amena les lésions appendiculaires.



Spiroptère. — On sait que les spiroptères mégastomes pénètrent souvent, en nombre considérable, dans la sous-muqueuse de l'estomac du cheval et y provoquent la formation de tumeurs inflammatoires dont les dimensions peuvent atteindre et même

dépasser celles d'un œuf de poule. Une de ces tumeurs observée par nous avait le volume d'une mandarine.

Les tumeurs à spiroptères siègent dans le sac droit de l'estomac du cheval.

Elles sont creusées d'un grand nombre de cavités anfractueuses qui communiquent entre elles et sont souvent, par l'intermédiaire d'une ou plusieurs petites fistules, en communication avec la cavité de l'estomac.

Considérées autrefois comme de véritables cancers, ces tumeurs sont classées par les auteurs modernes parmi les formations inflammatoires. On croit généralement qu'elles sont le produit de l'irritation du tissu conjonctif sous-muqueux par la présence des vers [1].

Nous ne pensons pas que les vers seuls soient capables d'amener autour d'eux une prolifération aussi considérable du tissu conjonctif.

En effet, ayant étudié les lésions que provoquent, dans les différents tissus, les larves de quelques nématodes (sclérostome, œsophagostome) dont les dimensions sont beaucoup plus considérables que celles des spiroptères, nous n'avons jamais constaté autour d'elles une prolifération aussi abondante du tissu conjonctif.

En outre, ces tumeurs sont toujours suppurées. Comme elles sont en communication avec l'estomac par des fistules, on pourrait croire que cette suppuration est secondaire et n'a rien à voir avec la formation propre de la tumeur.

Pour nous rendre compte exactement de l'étiologie de cette suppuration, nous avons cherché à suivre l'évolution de ces tumeurs.

Ayant examiné à l'abattoir aux chevaux de Vaugirard un nombre considérable d'estomacs frais (deux mille environ), nous avons trouvé, dans 4 cas, de très petites tumeurs à spiroptères qui présentaient cette particularité intéressante qu'elles étaient encore recouvertes par la muqueuse gastrique absolument saine.

Les coupes en série ont montré qu'en aucun point ces tumeurs n'étaient en communication avec la cavité stomacale.

Ces tumeurs sont formées de deux ou trois petits nodules

1. L. Neumann, *Traité des maladies parasitaires*, p. 337.

inflammatoires juxtaposés et identiques quant à leur structure histologique.

Chaque nodule présente deux zones distinctes.

La zone centrale n'est qu'un foyer de suppuration dans lequel, outre des spiroptères et des leucocytes, on trouve de nombreux microbes tantôt libres, tantôt situés dans l'intérieur des phagocytes.

La zone périphérique, très épaisse, est constituée par le tissu conjonctif de nouvelle formation, infiltré de leucocytes, mais ne renfermant presque pas de microbes. La muqueuse qui recouvre ces petites tumeurs est saine et ne présente pas au microscope d'infiltration inflammatoire.

L'examen microscopique des foyers inflammatoires en question montre, très nettement, que leur suppuration est primitive et n'est nullement consécutive aux lésions de la muqueuse adjacente.

Comme les spiroptères mégastomes pénètrent la cavité de l'estomac dans la sous-muqueuse, il est évident que la suppuration des tumeurs dont ils provoquent la formation ne peut être due qu'à des microbes introduits par ces petits nématodes.

Ainsi, les tumeurs gastriques à spiroptères représentent certainement un des exemples les plus convaincants du transport des microbes dans les tissus de l'organisme par les helminthes.

On arrive également à cette conclusion même lorsqu'on examine des tumeurs à spiroptères d'un volume plus considérable.

Une de ces tumeurs est représentée sur la figure 8. La coupe sagittale, mesurant 4 centimètres 1/2 de long sur 3 de large, montre 12 cavités suppurées contenant dans leur intérieur un grand nombre de spiroptères. Quelques-unes de ces cavités communiquent entre elles. Le pus examiné sur frottis montre un grand nombre de streptocoques.

La muqueuse gastrique qui recouvre cette tumeur paraît saine. Cependant, à l'examen attentif à la loupe, on aperçoit par endroits des orifices punctiformes à travers lesquels on fait sourdre par une pression énergique une goutte de pus. L'examen histologique pratiqué à ce niveau montre qu'il s'agit de fistules filiformes par lesquels les abcès à spiroptères sont

en communication avec la cavité gastrique, dont la muqueuse est atteinte sur une surface très petite.

L'examen des coupes en série ne permet pas une autre explication que celle de la propagation de l'inflammation de la tumeur à la muqueuse.

Les spiroptères *microstomes* se trouvent en général sur la surface de la muqueuse gastrique, mais ne provoquent pas en général la formation de tumeurs inflammatoires sous-muqueuses. Cependant, ils se fixent sur la muqueuse gastrique et peuvent même occasionner des ulcérations, comme M. Railliet l'a observé quelquefois chez l'âne [1].

1. A. Railliet, *Traité de zoologie médicale et agricole*, p. 535.

(*A suivre.*)

Action de la pipéridine et de quelques autres amines sur les bactéries et, en particulier, sur le bacille de la morve.

PAR MM.

M. NICOLLE ET A. FROUIN

Au cours d'études sur la digestion des albuminoïdes, l'un de nous (Frouin), sans connaître les recherches antécédentes de Spiro, observa, en 1905, que la pipéridine jouit du pouvoir de dissoudre aisément l'ovalbumine coagulée. Il fit part de cette curieuse propriété à son collaborateur d'aujourd'hui, que les actions protéolytiques intéressaient depuis longtemps (au point de vue de la bactériolyse) et qui s'occupait alors de la morve expérimentale du cobaye. D'où le désir commun de soumettre, à l'influence de la pipéridine et de quelques autres amines, plusieurs types de bactéries, notamment le bacille morveux. — Les expériences qui suivent ont été faites en 1905 et au début de 1906.

POUVOIR DISSOLVANT COMPARÉ DE DIVERSES AMINES (ET DE L'AMMONIAQUE) VIS-A-VIS DU B. MORVEUX PRIS COMME TYPE

Technique suivie. — 10 centigrammes de b. morveux vivants, provenant de cultures sur gélose à la pomme de terre (Voir : M. NICOLLE, *Études sur la morve exp. du cobaye*. Ces *Annales*, 1906), étaient émulsionnés dans 1 c. c. d'eau distillée. Puis, on faisait agir en quantités équivalentes — pendant 24 heures à 37° — l'ammoniaque ou les amines sur cette émulsion, telle quelle ou bouillie (10 minutes).

On notait les résultats obtenus, après quoi on soumettait l'émulsion, en tube scellé, à la température de 100° (5 minutes).

Résultats obtenus. — Les microbes chauffés sont bien moins attaqués par les amines actives que les microbes vivants. Les uns et les autres se dissolvent bien plus complètement après quelques minutes à 100° qu'après 24 heures à 37°. La différence entre ces deux modes de traitement atteint son maximum dans le cas des germes préalablement chauffés. Par contre, ceux-ci, additionnés d'amines actives et portés de nouveau à 100°, se comportent presque absolument comme les bacilles vivants.

La pipéridine possède un pouvoir solubilisant très éner-

gique (elle clarifie à peu près complètement les émulsions morveuses); la diéthylamine ne se montre guère inférieure — la diméthylamine vient ensuite — l'éthylamine et la méthylamine éclaircissent beaucoup moins — la triméthylamine infiniment moins encore — enfin, la faculté dissolvante de la pipérazine demeure médiocre et l'ammoniaque, ainsi que la pyridine, apparaissent totalement inactives.

Dans un travail classique, Bredig fait connaître, par les chiffres suivants, le pourcentage de molécules dissociées, à 25°, au sein de solutions contenant 1 mol. gr. des bases étudiées par nous, pour 256 litres d'eau.

Pipéridine	45,90
Diéthylamine	42,70
Diméthylamine	34,80
Ethylamine	30,70
Méthylamine	29,10
Triméthylamine	12,90
Pipérazine	11,80
Ammoniaque	7,54
Pyridine	environ 10^{-11} fois moins que dans le cas de la pipéridine.

Au moment où nos recherches ont été entreprises, nous n'avions pas encore lu, dans le texte, le travail de Bredig. La concordance *parfaite* entre la classification du savant allemand et la nôtre n'en offre que plus d'intérêt.

SOLUBILITÉ COMPARÉE DE DIVERSES BACTÉRIES DANS LA PIPÉRIDINE ET LA DIÉTHYLAMINE

Pipéridine. — Nous avons employé les mêmes proportions respectives de microbes et d'amine (1 : 3) que dans les expériences précédentes, mais la quantité d'eau distillée a été réduite à 2 parties. Les germes (toujours cultivés sur la gélose à la pomme de terre) étaient émulsionnés vivants avec l'eau; puis, on versait la pipéridine, on scellait, on mélangeait et on suspendait les tubes dans l'eau bouillante, pendant 10 minutes, en agitant à plusieurs reprises.

Nous avons pu nous convaincre que les bacilles morveux et pesteux se montrent presque intégralement solubles, le b. pyocyanique de même — tandis que le b. typhique et le *b.*

coli laissent un certain résidu, le b. charbonneux davantage, le staphylocoque encore plus.

[Le b. tuberculeux frais peut être dissous, en proportion notable, par la pipéridine. Avec les microbes secs et dégraissés, la solubilité s'accroît, naturellement].

Diéthylamine. — Elle fournit à peu près les mêmes résultats que la pipéridine.

EXPÉRIENCES DIVERSES, AVEC LES B. MORVEUX TRAITÉS PAR LA PIPÉRIDINE

Les germes (1 partie), émulsionnés dans l'eau distillée (2 p.) et additionnés de pipéridine (3 p.), ont été chauffés 10 minutes à 100°, comme tout à l'heure (nous désignerons ces solutions sous le nom de « solutions à 100° ») — ou bien 1/4 d'heure à 115° (« sol. à 115° ») — ou, enfin, 1 heure à 120° (« sol. à 120° »).

Puis, dans les trois cas, les liquides clairs ont été précipités par 10 volumes d'alcool-éther (ââ) et le tout jeté sur filtre et lavé avec 20 volumes d'alcool-éther, afin d'éliminer aussi complètement que possible la pipéridine (dont il est inutile de rappeler la haute toxicité). Finalement, les dépôts obtenus étaient redissous dans l'eau distillée et les solutions stérilisées un quart d'heure à 110°.

NOTA. — Les précipités, fournis par les « solutions à 120° », se sont montrés moins abondants mais bien plus foncés que les autres, et, en outre, gommeux et adhérents au papier filtre (au lieu d'offrir une consistance ferme et de se détacher aisément).

Expériences faites avec les « sol. à 100° ». — Un volume du liquide final, répondant à 1 gramme de germes, injecté dans les muscles ou dans le péritoine des *cobayes neufs*, n'a jamais déterminé le moindre accident, mais n'a pu immuniser ces animaux contre la morve. Toutefois, leur sérum agglutinait les bacilles morts (au 50e) et précipitait les extraits microbiens (au 25e) et la malléine (au 10e) [1].

Le même volume, injecté dans le péritoine des *cobayes morveux* (par exemple des sujets qui avaient reçu, 10 à 20 jours auparavant, 10^{-2} cgr. de virus M dans l'abdomen [1]), les a toujours tués rapidement, d'ordinaire en moins de 24 heures.

1. Voir : M. NICOLLE, *Etudes sur la morve exp. du cob.*

Le virus vivant hypersensibilise donc les animaux vis-à-vis des germes dissous par la pipéridine. Ces derniers germes jouissent aussi du pouvoir d'hypersensibiliser les cobayes vis-à-vis d'eux-mêmes, car la mort survient, dans la règle, à la 2e ou à la 3e injection (intrapéritonéale ou intramusculaire[1]). Il nous a semblé, par contre, que les microbes dissous par la pipéridine n'hypersensibilisaient pas les animaux vis-à-vis des microbes tués par l'alcool-éther.

Expériences faites avec les « sol. à 115° ». — Mêmes résultats. *Résultats analogues, en remplaçant la pipéridine par la diéthylamine.*

Expériences faites avec les « sol. à 120° ». — Un volume de liquide, répondant à 2 grammes de germes, injecté dans les muscles ou dans le péritoine des *cobayes neufs*, ne les a pas vaccinés; le sérum de ces animaux est devenu agglutinant, mais non précipitant (il ne coagulait pas, en particulier, la solution d'antigène).

Un cobaye (A), *qui avait reçu 2 injections* intrapéritonéales d'un volume de liquide répondant à 2 grammes de microbes, *a résisté à l'inoculation du virus vivant. Un* second *cobaye* (B), *traité de même, est mort, en quelques heures, lors d'une* 3e *injection, manifestant* ainsi *une hypersensibilité vraiment schématique.* Voici les observations, résumées, de ces deux animaux.

Cob. A., mâle, 740 grammes. Reçoit, dans le péritoine, la valeur de 2 grammes de microbes : émaciation faible. Après 14 jours, le poids ayant atteint à nouveau 740, on recommence : émaciation modérée. Après 29 jours, 750 (+ 10); 10^{-2} cgr. de virus C, sous la peau (un témoin meurt en 31 jours) : abcès local, qui guérit aisément; tuméfaction des ganglions inguinaux et axillaires correspondants, terminée par résorption. Après 78 jours, 770 (+ 20); on injecte, sous la peau, 1 cgr. de microbes tués par l'alcool-éther : réaction normale. Après 28 jours, 810 (+ 40); 10^{-2} cgr. de virus C, dans le péritoine (un témoin meurt en 15 jours) : *aucun effet.* Après 25 jours, 800 (-10); on injecte, sous la peau, 1 cgr. de microbes tués par l'alcool-éther : réaction normale.

Cob. B., mâle; 900 grammes. Reçoit, dans le péritoine, la valeur de 2 grammes de microbes : émaciation marquée. Après 24 jours, 910 (+ 10); on recommence : émaciation marquée. Après 19 jours 910 (±0); on recommence : malade presque immédiatement; meurt en 5 heures, avec météorisme. A l'autopsie : pas d'épanchement : *plaques fibreuses sur les muscles testiculaires.*

1. Les animaux périssent habituellement très vite lors des réinjections intrapéritonéales et toujours plus lentement lors des réinjections intramusculaires.

La substance, à laquelle le b. morveux doit son électivité pour le péritoine qui revêt le *musculus testis* du cobaye mâle, résiste donc à 120°, pendant une heure, en présence de la pipéridine. De même, pour la substance agglutinogène (la subst. précipitogène semble avoir disparu dans ces conditions) — pour la subst. immunisante — et pour celle qui engendre et révèle les phénomènes d'hypersensibilité observés par nous. Nous ne nous occuperons pas ici des rapports qui peuvent unir ces diverses substances.

Un volume de liquide, répondant à 2 grammes de germes, injecté dans le péritoine des *cobayes morveux*, les a toujours tués rapidement.

Le bacille de la morve, traité par la pipéridine, ne conserve donc sa toxicité que vis-à-vis des sujets devenus hypersensibles et encore faut-il leur administrer de fortes doses de « solutions microbiennes » pour mettre en évidence cette propriété nocive.

Telles sont les principales expériences, entreprises par nous sur le pouvoir dissolvant des amines vis-à-vis des bactéries. Obligés de les abandonner depuis un an, pour reprendre, chacun de notre côté, d'autres recherches momentanément suspendues, nous n'avons pas cru devoir différer plus longtemps la publication de ce travail qui, malgré sa brièveté et son caractère incomplet, fait connaître, en l' « illustrant » d'exemples démonstratifs, une technique susceptible de rendre des services dans les études biologiques.

Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles

(avec les Pl. XI et XII).

PAR N. H. SWELLENGREBEL.

(Travail de l'Institut zoologique de l'Université d'Amsterdam.)

I

INTRODUCTION

Dès que l'on a commencé à faire une place systématique des Bactériacées, on a réservé pour les Spirochètes une place plus ou moins particulière. Migula (16), dans son système, dit que « peut-être » les spirochètes se meuvent au moyen d'une membrane ondulante. On voit par cette remarque que ce savant, quoique croyant encore à la nature bactérienne des Spirochètes, se faisait une image bien remarquable de ces organismes intéressants. Schaudinn (21), dans son fameux mémoire sur *Trypanosoma noctuae* et *ziemanni*, a fait revivre la question de la place systématique des Spirochètes. D'abord il a cru pouvoir affirmer que les Spirochètes ne sont pas des bacilles, mais des Trypanosomes. Cependant, dans un mémoire ultérieur, il a révoqué cette opinion, se basant sur les résultats de l'étude de *Spirochaeta plicatilis*. D'après ces recherches, les Spirochètes ont un périplaste spiralé, qui semble envelopper l'entoplasme. Il n'existe pas de véritable noyau, mais il y a un filament chromatique, sur lequel sont disposées des granules. Les formes de développement de *Trypanosoma ziemanni* ne sont, d'après Schaudinn, autre chose que des Trypanosomes très allongés, spirochétiformes, n'ayant rien à faire avec les Spirochètes véritables.

Dans des mémoires récents, Prowazek et Hoffmann (19), Prowazek (18), Hartmann et Mühlens (8) ont repris ces études. Ils ont étudié *Spirochaeta gallinarum*, *buccalis*, *dentium* et *balanitidis*, et ils pensent que ce sont des protozoaires véritables. En faveur de cette opinion, ils donnent les arguments suivants :

1° En colorant au Löffler ou au Giemsa, après mordançage

à l'acide phénique, on peut démontrer une membrane ondulante ;

2° Il est impossible de *plasmolyser* les organismes à l'aide d'une solution de NaCl à 5 ou à 10 0/0, concentration plus que suffisante pour plasmolyser les bacilles imperméables. Hartmann et Mühlens en concluent que les Spirochètes n'ont pas de membrane cellulaire. Il faut remarquer cependant que, par cette expérience, les auteurs ne prouvent rien, vu l'existence de tout un groupe de bactéries incontestables qui ne se plasmolysent pas, même à des concentrations plus fortes encore, comme l'a démontré Alfred Fischer (5). Sous l'influence des solutions de NaCl, les Spirochètes forment des boules de protoplasme, émergeant au delà du contour cellulaire normal. Ce phénomène est tout à fait en concordance avec l'hypothèse de la nature bactérienne des Spirochètes, parce que nous savons également par les recherches de Fischer, qu'il y a beaucoup de bactéries, plasmolysables et non plasmolysables, qui expulsent, sous l'influence nocive de la solution de NaCl, une partie de leur protoplasme, phénomène connu sous le nom de *plasmoptyse ;*

3° Les auteurs pensent que les Spirochètes se multiplient par division longitudinale. Ils se basent surtout sur le fait qu'on peut trouver des formes unies seulement par un mince filament et ils conçoivent ce stade comme la fin de la division longitudinale. Ils ne sont cependant pas affirmatifs à ce sujet, car ils disent que, si on ne veut pas admettre la division longitudinale, la division transversale très singulière (qu'on ne rencontre pas chez les spirilles où existe toujours une cloison transversale) est un caractère différentiel très net des Spirilles et des Spirochètes.

Les recherches récentes sur deux Spirochètes (*Sp. balbianii* étudié par Perrin [17] et *Sp. anodontae,* étudié par Keysselitz [9]), semblent parler en faveur de l'hypothèse de la nature protozoaire des Spirochètes. Ces deux organismes, qui se ressemblent beaucoup, ont tous deux des membranes ondulantes et semblent se diviser longitudinalement.

Borrel (1), en France, Zettnow et Koch (16), Thesing (23), en Allemagne, sont d'une opinion toute différente. Ils pensent que les Spirochètes sont des bactéries véritables. Les deux premiers auteurs ont étudié *Spir. gallinarum;* Borrel et, après

lui, Zettnow ont remarqué des cils péritriches chez cet organisme et aussi chez d'autres. C'est pour cela que Borrel veut éliminer *Sp. gallinarum* du rang des Spirochètes véritables, et le mettre parmi les spirilles. Laveran et Mesnil croient également à la nature bactérienne des Spirochètes.

Dans le but d'élucider la question, s'il faut ranger les Spirochètes parmi les Protozoaires ou les Bactériacées, j'ai cru utile de faire une étude comparative d'un Spirille et d'un Spirochète. Comme représentant des spirilles, j'ai pris le grand *Spirillum giganteum* (syn. *Sp. volutans*) et comme représentant des Spirochètes *Sp. balbianii*, que Perrin range encore parmi les Trypanosomes, mais qui est, suivant Schaudinn, Prowazek et Laveran et Mesnil (11), vraiment un Spirochète. Parce que la nature de Spirochète semble encore un peu douteuse chez *Sp. balbianii*, j'ai étudié aussi un Spirochète incontestable, *Sp. buccalis*. Ces études ont peut-être aussi quelque utilité pour interpréter certains stades du cycle évolutif de *Sp. balbianii*.

II

Spirillum giganteum (Mig.) syn. Sp. volutans (Kutscher 10)

J'ai pris ce bacille comme objet d'étude à cause de sa grande taille. En effet c'est un des plus grands bacilles qu'on connaisse. (Les individus de mes cultures, provenant du laboratoire de M. le Dr Kral, avaient une longueur de 10-20 μ et une largeur de 1.5 μ). Le *Spirillum giganteum* est surtout connu des bactériologistes à cause d'une matière de réserve, contenue dans les cellules, appelée par A. Meyer (15) : « Volutine », et qui n'est autre chose que la substance des « corpuscules métachromatiques » des cellules de levure, que Guilliermond (7) avait déjà étudiée et dont il avait fixé antérieurement les qualités chimiques. Récemment, Ellis (4) a fait une excellente étude de cet intéressant organisme, des résultats de laquelle je me suis servi avantageusement dans mes propres recherches.

Examen a l'état vivant. — A l'état vivant, *Spirillum giganteum* présente le type normal des Spirilles. A l'intérieur des cellules, on distingue des granules luisants de volutine et de graisse. En examinant les cellules à une lumière pas trop forte, on parvient souvent à déceler des bandes transversales, situées

parmi les granules de volutine et de graisse. Ces bandes ne sont pas si réfringentes que les granules. Souvent on observe qu'elles sont liées entre elles, de sorte qu'il se forme un filament continu en zigzag ou en spirale. Sans doute il faut homologuer ce fil à celui que j'ai pu démontrer dans *Bacillus maximus buccalis* (22). On verra que les études cytologiques plus détaillées confirment cette manière de voir.

Les mouvements de *Sp. giganteum* sont très compliqués. Ellis les a observés minutieusement. En examinant des cellules en mouvement, je fus frappé de l'indépendance du mouvement ondulant, de celui qui fait changer de place la cellule. Souvent on pouvait observer des cellules en vives ondulations, qui cependant ne se déplaçaient que très lentement ou même ne changeaient pas de place. Un autre mouvement très remarquable, que je n'ai pas trouvé signalé, est le suivant : Une cellule immobile décrit soudain un demi-cercle autour de l'axe longitudinal ; c'est comme le commencement d'un mouvement ondulant, subitement arrêté. Après un court repos, la cellule répète ce mouvement convulsif, sans qu'on puisse déceler la moindre contraction protoplasmique à l'intérieur de la cellule.

Technique pour la coloration et la fixation. — Pour la fixation des cellules, j'ai employé le formol à 40 0/0 qui donne d'excellents résultats, les contractions du protoplasme étant extrêmement rares. Pour la coloration, je me suis servi en premier lieu de l'hématoxyline ferrique d'Heidenhain, qui m'a donné ici, comme chez *Bac. maximus buccalis*, d'excellents résultats. En dehors de cette méthode, j'ai fait usage, avec beaucoup de succès, de la méthode de Romanowsky-Nocht modifiée par Giemsa (solution d'azur II à 0,8 0/0 : 1 partie ; solution d'éosine à 0,01 0/0 : 5 parties. Colorer pendant la nuit, laver, sécher, monter) que Perrin recommande pour la coloration de *Sp. balbianii* et qui donne des résultats beaucoup plus satisfaisants que la vieille méthode de Romanowsky, employée jusqu'alors dans la technique bactériologique.

Structure du protoplasme. — La meilleure manière de mettre en évidence la structure protoplasmique, c'est la coloration momentanée dans une solution diluée de bleu de méthylène. Dans des préparations colorées de cette manière, on voit que le protoplasme est constitué d'alvéoles plus ou moins grandes

(d'un diamètre de 0,3 - 0. 9 μ). Quelquefois il n'y a qu'une rangée d'alvéoles occupant toute la largeur de la cellule. Le plus souvent, les alvéoles sont plus petites, et on en observe deux ou même trois rangées (fig. 8.) Les cloisons inter-alvéolaires sont très minces, tandis que celles qui sont situées à côté de la membrane cellulaire sont plus épaisses.

Ellis affirme que les alvéoles de *Sp. giganteum* ne sont autre chose que des granules de graisse (qui restent incolores avec le bleu de méthylène) entassés les uns contre les autres, à l'intérieur de la cellule. Quoiqu'il soit possible que l'on prenne quelquefois des granules de graisse pour des alvéoles, je ne crois pas qu'on ait le droit de généraliser cette manière de voir. J'ai coloré les cellules au Sudan III; quelquefois certaines alvéoles se colorèrent, mais le plus souvent elles restaient tout à fait incolores. Je crois donc pouvoir affirmer qu'il y a une structure alvéolaire incontestable dans le protoplasme de *Sp. giganteum*.

La membrane cellulaire ne se colore que faiblement au bleu de méthylène. Il y a ici une différence entre *Sp. giganteum* et *Bac. maximus buccalis* (dont la membrane se colore fortement), tandis que le spirille se rapproche à cet égard de *Spirochaeta balbianii*.

Structure nucléaire. — Quand on a suffisamment différencié après coloration au Heidenhain, on observe dans les spirilles des structures tout à fait identiques à celles de *Bacillus maximus buccalis*; seulement la spirale nucléaire se montre ici avec une netteté plus grande. On voit dans les cellules, à distances plus ou moins égales, des bandes transversales, le plus souvent légèrement inclinées sur l'axe longitudinal de la cellule, qui forment entre elles une spirale très nette. Quelquefois cette spirale est tout à fait homogène (fig. 1), mais le plus souvent on observe des granules chromatiques, situées sur les tours de la spirale et qui se colorent d'une manière plus intense que les filaments qui les réunissent. Wager (24) semble avoir vu un filament nucléaire analogue chez *Spirillum undula*. Ses descriptions sont cependant trop courtes pour qu'on puisse tirer des conclusions de sa note (fig. 4.)

Les granules chromatiques se distinguent facilement des granules de volutine et de graisse qui se trouvent en abon-

dance dans les cellules de *Sp. giganteum*. Les granules de graisse ne se colorent pas : il n'est donc pas à craindre qu'on les prenne pour des granules chromatiques. Les grains de volutine prennent vivement la couleur, non seulement le bleu de méthylène, mais aussi l'hématoxyline ferrique. Cependant on peut les distinguer au premier abord des granules chromatiques par leur réfringence; je ne me suis pas contenté de cette différence, mais j'ai essayé d'établir d'une façon plus précise la nature chimique des granules chromatiques. Il résulte de ces recherches, que je ne décrirai pas ici, parce que je l'ai fait déjà *in extenso* dans mon mémoire sur *Bac. maximus buccalis*, qu'on a à faire à des corpuscules bien distincts des grains de réserve.

En considérant les résultats des recherches chimiques, sur la nature du filament spiralé de *Bac. maximus buccalis*. je crois qu'il est très vraisemblable qu'on a à faire ici également à un organelle de nature nucléaire.

Comme chez *Bac. maximus buccalis*, le fil nucléaire peut se diviser longitudinalement. Dans une cellule en croissance, on peut voir plusieurs stades de cette divison. On peut distinguer également deux sortes de spirales : 1° Des spirales homogènes fortement colorables et sans granules (fig. 1); 2° des spirales moins colorables, avec des granules sur les tours de la spirale (fig. 4.) Sans doute il faut interpréter ainsi ce phénomène, que chez la spirale homogène, la chromatine est répartie d'une façon diffuse tout le long du fil et que chez la spirale granulée, la chromatine s'est différenciée des éléments plastiques de la spirale, pour former les granules.

Après cette différenciation les granules se divisent, de sorte qu'à chaque tour de la spirale sont situés maintenant deux granules (fig. 5). Puis les filaments transversaux se divisent; mais on ne peut suivre cela qu'assez rarement, ce qui vient sans doute de ce que la division s'accomplit très vite. Le reste de la division, je n'ai pu le suivre nettement. Quelquefois on croirait que le fil spiralé se divise en plusieurs morceaux (fig. 6). Je ne puis donc pas dire si la division s'accomplit de la même manière que chez *Bac. maximus buccalis*. Toutefois il est bien vraisemblable que les deux filaments qui résultent de la division, ne restent pas au même endroit, mais que l'un va d'un côté et l'autre en sens inverse, de sorte qu'il

en résulte une séparation des deux fils. Il y a donc tout lieu de croire que les deux parties ne resteront pas dans la même cellule après la division cellulaire.

On m'a fait l'objection que le fil spiralé, que j'avais observé chez *Bac. maximus buccalis*, n'est autre chose que les cloisons des alvéoles protoplasmiques. Pour élucider cette question, j'ai fait particulièrement attention à la situation de la spirale dans la cellule et je crois avoir trouvé des faits qui excluent absolument cette manière de voir.

Après différenciation suffisante, la membrane cellulaire de *Sp. giganteum* reste incolore. On voit la cellule comme un bâtonnet gris pâle, homogène, sur lequel se dresse le fil nucléaire. Si les bandes transversales étaient vraiment des cloisons, il serait tout à fait inconcevable que les parois qui séparent les alvéoles restent colorées, que les parois situées contre la membrane cellulaire, qui sont généralement plus épaisses que les dernières, restent incolores (fig. 3-6).

On observe pas trop rarement des filaments nucléaires, qui ne laissent pas de doute sur la nature spiralée de cet organelle. Parfois on voit le filament former de petites boucles dans les tours de la spirale (fig. 16), chose tout à fait inexplicable si on regarde les bandes transversales comme des cloisons d'alvéoles. En examinant attentivement la situation d'une des bandes transversales, en relation avec les autres, on peut souvent voir qu'elles sont situées alternativement dans deux plans, l'un un peu plus haut que l'autre (fig. 16 et 17). Ceci est parfaitement en concordance avec la nature spiralée supposée, mais pas du tout avec celle de cloisons alvéolaires, et exclut également la supposition que le filament nucléaire est une bande en zigzag.

Quand le protoplasme est d'une structure alvéolaire grossière, on peut facilement distinguer les parois des alvéoles des bandes nucléaires (fig. 2). On voit alors les bandes traverser obliquement les alvéoles. Quand la structure est plus fine, les cloisons deviennent plus minces et se décolorent aisément, de sorte qu'on ne peut, le plus souvent, rien voir de la structure protoplasmique dans les parties situées entre les bandes. Cependant j'ai eu quelquefois l'occasion de voir, d'une manière très distincte, les cloisons alvéolaires situées parmi les bandes nucléaires, ce qui

prouve que ces deux choses ne sont pas du tout identiques (fig. 12).

Enfin la structure alvéolaire du protoplasme rend très invraisemblable l'hypothèse que le filament nucléaire ne serait qu'une rangée de cloisons alvéolaires. Les dernières sont plus minces que les bandes nucléaires et, tandis que les cloisons ne traversent pas la largeur de la cellule, mais se perdent dans le protoplasme pariétal, on peut observer clairement, dans des préparations bien différenciées, que les bandes traversent vraiment toute la largeur de la cellule (fig. 1 et fig. 8).

Il résulte de cet exposé qu'il n'y a pas de raison de supposer que les bandes transversales soient des cloisons d'alvéoles, qu'il y au contraire tout lieu de croire qu'on a ici vraiment à faire à un fil spiralé continu, de nature nucléaire.

Plasmolyse. — Alfr. Fischer (5) et après lui Ellis (4), ont fait déjà des recherches sur la morphologie de la plasmolyse chez *Spirillum giganteum*. Je crois cependant utile d'en donner quelques figures et de la mentionner ici, parce que Ellis n'a représenté qu'un faible degré de plasmolyse et que ce sont justement les plasmolyses plus considérables, qui amènent aisément des erreurs (fig. 24, 25 et 26).

Division cellulaire. — La division cellulaire de *Sp. giganteum* n'est pas du type qu'on rencontre généralement chez les bactéries, entre autres chez le *Bac. maximus*, ou chez les bacilles étudiés récemment par Guilliermond (7). Ellis a déjà attiré l'attention sur cet intéressant phénomène et a démontré qu'il ne se forme pas une cloison transversale [comme le pensent Hartmann et Mülhens (8)]. J'ai aussi vu cette division atypique, que je décrirai ici en raison de l'intérêt qu'elle a au point de vue de la systématique.

La cellule qui va se diviser montre, au milieu, un endroit plus mince que les autres parties de la cellule. A cet endroit, le protoplasme commence à s'entasser, de sorte qu'il se forme une masse, plus fortement colorable que les environs (fig. 9). Cette masse centrale de protoplasme, qui n'a pas été mentionnée par Ellis, peut causer des erreurs, parce qu'elle ressemble quelquefois à s'y méprendre à une membrane transversale[1].

1. Peut-être faut-il interpréter ces changements de la structure protoplasmique, au début de la division longitudinale, comme la formation d'une cloison transversale rudimentaire, car ils montrent quelque ressemblance avec les premiers stades de la formation d'une cloison, chez les bactéries étudiées par Guilliermond (7).

Cependant il n'en est pas ainsi, parce que cette pseudo-cloison ne persiste pas, mais disparaît dans le cours de la division. La masse centrale se divise à son tour (fig. 11), et forme l'endroit terminal des deux protoplastes filles, dans l'isthme entre les deux cellules. Dans les figures que donne Ellis de la division de *Sp. giganteum*, l'isthme entre les deux cellules n'est que très court et passe abruptement dans les cellules. Chez les individus que j'ai observés, l'isthme semble s'allonger pendant la division des protoplastes, de sorte qu'à la fin de la division, on observe deux cellules, liées par une bande mince, plus ou moins longue (fig. 11). Cette bande (ou pour mieux dire : tube) devient de plus en plus incolore et mince, et finit par se rompre au milieu ; la substance dont elle est composée est, en apparence, la même qui constitue les calottes apicales.

Ce mode de division rappelle de très près celui des Spirochètes, que Prowazek et d'autres auteurs prennent pour les stades finaux d'une division longitudinale. Il est vrai que chez *Sp. gallinarum*, les isthmes deviennent plus longs que chez notre Spirille, mais c'est seulement une différence non qualitative, mais quantitative, concordant avec le fait que les parties cellulaires, qui sont homologues aux calottes apicales des Spirilles, sont aussi très allongées chez les Spirochètes (cf. la description de *Sp. buccalis*). Quoi qu'il en soit, il faut être bien prudent pour conclure à la division longitudinale, quand on observe des cellules liées par un fil plus ou moins allongé et ce mode de division n'est pas du tout prouvé pour les Spirochètes.

Périplaste [1]. — Il y a déjà quelque temps, Zettnow (16) et Bütschli (2) ont décrit les appendices cellulaires des Spirillacées. C'étaient des enveloppes cellulaires qui étaient enroulées autour de la cellule en forme de spirale et qui proéminaient çà et là au delà du contour cellulaire. Bütschli observa en outre, chez *Sp.*

1. Prowazek (19) dit que « *périplaste* » signifie une sorte d'enveloppe pelliculeuse, qui recouvre le protoplasme vivant. Elle ne doit pas être confondue avec l'ectoplasme, qui constitue une partie du protoplasme, qui a une structure souvent alvéolaire et n'est pas nettement distinct de l'entoplasme. Comme exemples de périplaste, il cite la membrane ondulante des Spirochètes et des Flagellés. Il est pourtant clair que cette conception n'est pas juste. La membrane ondulante des Spirochètes ne constitue certainement pas un périplaste dans le sens de Prowazek, car elle est sans doute constituée de plasma vivant, ce qui ressort de la structure alvéolaire, observée par Bütschli (2), Hartmann et Mühlens (8). Je crois donc avoir le droit, malgré les remarques de Prowazek, de désigner sous le nom de périplaste, l'organelle que je vais décrire dans ce paragraphe.

volutans (Sp. giganteum), que cette enveloppe était de structure alvéolaire. Ce savant prend, comme on le sait, le corps protoplasmique pour le « corps central » ou noyau, tandis qu'il regarde l'enveloppe comme le vrai protoplasme. Cette dernière manière de voir étant vivement combattue, on a aussi voulu nier les faits sur lesquels l'opinion de Bütschli s'était basée. Ellis affirme que les figures de Bütschli s'expliquent par le fait que deux Spirilles dont l'un était vivement coloré et l'autre à peine, s'étaient superposés par hasard, et avaient ainsi causé l'erreur. Je décrirai ici quelques observations, qu'on ne peut pas expliquer par la supposition de Ellis et qui confirment les observations de Zettnow et Bütschli.

En observant les préparations colorées à l'Heidenhain et au bleu de méthylène ou à l'état vivant, on voit que plusieurs cellules se terminent en une calotte apicale, colorée en gris clair. Quelquefois elles se trouvent aux deux extrémités de la cellule, le plus souvent à une seule. Généralement elles sont d'une forme arrondie, quelquefois plus ou moins pointues, ce qui prouve que ce ne sont pas des produits de plasmolyse (fig. 31). Quand les cils sont colorés, on voit qu'ils prennent leur origine dans ces calottes. La calotte a une longueur de 0,6 – 0,9 μ.

En examinant des préparations faiblement ou pas différenciées, on voit que les calottes ont les extrémités libres d'appendices qui se dressent à la surface de la cellule. Cet *appendice* (comme je nommerai l'organelle) prend son origine dans la calotte et a l'air d'une bande large et transparente, qui s'enroule en une spirale à tours allongés, autour de la cellule (fig. 15). Cet enroulement n'est cependant pas très régulier, car souvent l'enveloppe reste toujours d'un côté de la cellule et passe d'autres fois autour d'elle en un demi-tour ou un tour complet seulement (fig. 13). Quelquefois (et ce n'est point du tout une observation rare), on voit que l'appendice s'étend au delà du contour cellulaire, quelquefois dans les parties concaves des courbes décrites par les cellules (fig. 20), d'autres fois dans les parties convexes (fig. 19). Il se montre alors comme une membrane ondulante de couleur grisâtre (comme la calotte), colorée plus faiblement que le protoplasme. Cette partie libre de l'appendice a une largeur de 0,45-0,75 μ. L'appendice a une largeur d'environ 1,2 μ, ce qu'on peut voir quand il est situé d'un côté de la

cellule (fig. 13) : quand il s'enroule autour d'elle, de telle façon qu'une partie est située sous la cellule, l'appendice semble être naturellement beaucoup plus mince et ne couvre qu'une partie du protoplasme visible.

La partie du protoplasme qui est couverte par l'appendice se distingue des parties restées nues par un aspect luisant, qui est surtout prononcé au bord de l'appendice ; en même temps la structure protoplasmique est indistincte et comme voilée. L'aspect luisant s'explique vraisemblablement par le fait que la réflexion de la lumière sur la surface de l'appendice est autre que sur celle du protoplasme ; la structure indistincte du protoplasme couvert par l'appendice doit être attribuée à la transparence incomplète de ce dernier (fig. 13, 15).

A mon avis, la calotte est l'extrémité d'un périplaste mince et transparent, dont on ne voit rien par conséquent. Ce périplaste montre cependant un épaissement assez large, qui s'étend en bande spiralée autour de la cellule. Cet épaissement périplastique, je l'ai désigné sous le nom d'*appendice*. Il est situé au dedans de la membrane cellulaire, de sorte que le protoplasme est couvert d'abord par le périplaste avec son appendice, puis par la membrane cellulaire. Entoplasme et appendice ne sont pas séparés par une membrane : des granules de volutine proéminent quelquefois en partie dans l'appendice périplastique et chez les cellules à vacuoles anormales, une vacuole s'étend dans l'ento- et le périplaste (fig. 18, 29).

La structure de l'appendice n'est à étudier que là où elle n'est pas rendue indistincte par le protoplasme, sur lequel l'appendice est couché, c'est-à-dire là où ce dernier se trouve hors du contour de l'entoplasme. Là, on voit que l'appendice est quelquefois de structure homogène, mais j'ai observé souvent des bandes transversales foncées et claires altèrner dans l'appendice, formant une structure alvéolaire (fig. 27). Dans ce cas, l'appendice ressemble parfaitement aux périplastes décrits par Bütschli (2) chez le même organisme et chez *Sp. serpens* (s. *Spirochaeta plicatilis*). Je crois donc pouvoir identifier ces différentes organelles.

La première question qui se pose est la suivante : Peut-on expliquer les faits mentionnés ici, à la manière de Ellis, c'est-à-dire peut-on prendre les figures observées pour des cellules

dont l'une est posée sur l'autre et qui sont colorées d'une intensité inégale? Je crois que cela est impossible. Le fait qu'on voit l'appendice périplastique couché, non seulement hors du contour cellulaire, mais aussi sur l'entoplasme et qu'on observe qu'il s'enroule autour de la cellule, rend, à mon avis, l'opinion de Ellis tout à fait invraisemblable. En admettant cette opinion, on ne saurait expliquer également le fait que l'appendice prend son origine dans la calotte apicale de la cellule et qu'il est recouvert de la membrane cellulaire. Je crois donc qu'on n'a pas besoin de tenir compte de cette supposition.

Une autre question est de savoir si on a à faire ici à des produits de plasmolyse ou à quelque autre agent détériorant la structure cellulaire naturelle. Je crois que les produits de dégénérescence sont exclus, parce que j'ai observé les appendices, chez les cellules d'une culture jeune, et je n'y ai constaté aucune trace de dégénérescence ou de malaise. La plasmolyse ne peut jouer aucun rôle, comme on peut s'en convaincre en observant les figures que donne la plasmolyse de *Sp. giganteum* (fig. 24, 26). On observe toujours des contractions irrégulières, ne ressemblant en rien aux figures régulières des appendices. En outre les parties libres de l'appendice montrent, comme je l'ai déjà dit, une structure alvéolaire, ce qui n'est pas en concordance avec l'hypothèse de la nature plasmolytique de l'appendice.

Il résulte de ces considérations que l'appendice que j'ai observé chez *Spirillum giganteum*, n'est pas un produit de dégénérescence, mais une partie essentielle de la cellule, formée par le périplaste. Il est impossible de fixer maintenant la fonction de l'organelle, peut-être joue-t-elle un rôle dans la locomotion.

Une dernière question qui se pose est la suivante : A-t-on à faire ici à une organelle *sui generis*, ou existe-t-il des organelles homologues, chez d'autres groupes de Protistes? Celles qui méritent le plus d'attention sont les membranes ondulantes des Flagellés et des Spirochètes.

Il résulte des études de Schaudinn que la membrane ondulante est en relation étroite avec le noyau, qu'elle est constituée en partie par des corps nucléaires. Il a été impossible de démontrer avec certitude un rapport entre l'appendice et le fila-

ment nucléaire de *Sp. giganteum*, de sorte que je ne crois pas qu'on ait le droit d'homologuer la membrane ondulante des Trypanosomes et l'appendice des Spirilles

Quant à la membrane ondulante des Spirochètes, qui a été le mieux étudiée chez *Sp. plicatilis* (*S. serpens*) par Bütschli (2) et Schaudinn (21), elle se comporte d'une manière différente. (Pour la membrane ondulante de *Sp. balbianii*, cf. la description de cet organisme.) Chez *Sp. plicatilis*, la membrane n'est autre chose qu'un périplaste entourant l'entoplasme mince. Il est muni de proéminences, placées alternativement de l'un et de l'autre côté de la cellule et qui sont de nature alvéolaire. L'appendice de *Spirillum giganteum* se distingue du périplaste de *Sp. plicatilis* par sa largeur plus faible et par le fait que la spirale qu'il décrit autour de la cellule est moins régulière et a des tours plus grands. On voit donc que ces deux organelles ne se distinguent que par des qualités peu essentielles, de sorte que je crois qu'on a le droit de les homologuer. Il en résulte qu'il n'est pas permis d'exclure les organismes, qui possèdent un périplaste tel que celui des Spirochètes typiques (comme *Sp. plicatilis*) du groupe des Bactériacées, si on n'a pas d'autres raisons plus valables.

Quelques observations que j'ai faites chez des cellules d'une vieille culture semblent indiquer qu'il existe des filaments longitudinaux dans la cellule de *Sp. giganteum*, qu'il faut interpréter peut-être comme des myonèmes. Dans les vieilles cultures on voit quelquefois que les cellules sont macérées. Elles montrent alors quelques filaments qui sont libres à une extrémité, et fixés par l'autre à la cellule (fig. 37, 44). Cette dégénérescence filamenteuse est très curieuse et semble être assez rare chez les bactéries, du moins je n'en ai jamais vu de descriptions. Peut-être a-t-elle des rapports avec une dégénérescence analogue des cils (v. *infra*).

Cils. — Les auteurs diffèrent encore au sujet du nombre et de l'implantation des cils de *Spirillum giganteum*.

Tandis que Cohn et Bütschli figurent les Spirilles avec un cil, Fischer (5), Kutscher (10) et Ellis (4) affirment que cet organisme a, à l'une des extrémités de la cellule, une touffe de cils, qui se peuvent agglutiner et former ainsi un pseudo-cil composé de plusieurs cils véritables. Quant à l'implantation, Zettnow

et Fischer affirment que les cils prennent leur origine de la membrane et, quoique de nature plasmatique, n'ont point de communication directe avec le protoplasme, comme on peut s'en convaincre en plasmolysant les organismes, ce qui n'arrête pas tout de suite les mouvements des cils. Zettnow (26) a constaté, en outre, que les cils prennent leur origine dans la calotte apicale de la cellule.

A cette manière de voir s'oppose Ellis, qui affirme avoir observé que les cils sont en contact direct avec le protoplasme et qu'ils traversent la membrane cellulaire, par une ouverture circonscrite dans cette dernière. En colorant la membrane, il a pu démontrer l'existence de cette ouverture. Il faut mentionner encore le travail de Bütschli (2), où il affirme que les cils sont d'une structure spiralée, avec çà et là des bandes transversales plus colorables. Les cils sont implantés dans les calottes apicales, ce qui est d'accord avec les affirmations de Zettnow.

Pour colorer les cils, j'ai fait usage de la méthode de Löffler modifiée par Arthur Meyer.

Une manière plus simple et en même temps plus délicate est celle de la coloration au Heidenhain, sans différencier dans l'ammoniaque ferrique.

Quand la membrane cellulaire s'est colorée vivement, ce qui arrive souvent quand on n'a pas différencié, on voit que celle-ci, assez épaisse au flanc de la cellule, s'amincit là où elle couvre la calotte apicale, de sorte que, à l'extrémité de la cellule, elle n'est pas visible (fig. 35). A la place où la calotte se distingue de l'entoplasme, se trouve une région fortement colorable, plus fortement même que le filament nucléaire (fig. 35, 43). En observant plus attentivement cette région chromatique, on voit qu'elle est, en toute apparence, composée de deux éléments : une bande transversale (faisant partie du filament nucléaire) et deux granules, l'un généralement plus gros que l'autre. Cette partie hyperchromatique du filament se trouve là seulement où se trouve la calotte ; quand l'autre extrémité de la cellule n'a pas de calotte (ce qui est généralement le cas), il n'y a point de partie hyperchromatique. Il semble donc que cette partie est liée étroitement à la calotte apicale.

Il y a une différence saillante entre les résultats de la coloration de Meyer et de Heidenhain. En employant la dernière

méthode, on ne voit jamais de touffes de cils; c'est toujours un grand cil, très net, qui ne montre aucune trace d'adhérence mutuelle de plusieurs cils. La partie basale se continue, comme nous l'avons déjà vu, dans la calotte apicale, extrémité de l'appendice périplastique. Quelquefois le cil passe assez brusquement dans l'appendice (fig. 33); quelquefois cette transition est très lente, parce que la calotte est pointue et forme le cil en s'amincissant (fig. 31, 34). En toute apparence, le cil n'est qu'une continuation de l'appendice. Ce rapport s'exprime aussi dans la structure des cils.

Cette structure n'est pas homogène, mais spiralée; on voit sur le cil des lignes transversales qui indiquent une spirale aux tours très grands (fig. 31, 32). Quelquefois on observe un fil détaché du cil, qu'on pourrait prendre pour un cil véritable, détaché de la touffe. Je ne crois cependant pas que cette conception soit juste, parce que le phénomène est assez rare et qu'on l'observe le plus fréquemment sur les cils détachés de la cellule (fig. 36), de sorte qu'on n'a pas le droit de regarder ces formes comme naturelles.

A mon avis, il faut regarder les cils « détachés de la touffe » comme des myophanes détachés du cil véritable; on a donc une analogie avec ce que j'ai observé chez les cellules en macération. Le fait qu'on observe si souvent des touffes de cils dans les préparations colorées au Löffler, s'explique par le fait que la macération d'organelles, aussi fragiles que les cils, s'accomplit déjà pendant les manipulations un peu rudes (même dans la modification de Meyer) de cette méthode. Thesing (23) fait aussi mention de pareilles macérations des cils.

D'une part, je suis donc d'accord avec Ellis (4) en disant que les cils prennent leur origine dans le protoplasme, d'autre part je puis confirmer les affirmations de Zettnow et Bütschli (26, 2) qui admettent que les cils sont des continuations de l'appendice périplastique. Il résulte cependant des recherches sur l'appendice, que ces deux affirmations ne sont pas en contradiction, parce que, comme je l'ai déjà dit, la membrane cellulaire couvre tout l'appendice périplastique et donc aussi la calotte.

Une question de grande importance est de savoir s'il y a une liaison entre le cil et le filament chromatique. Je n'ai pas pu démontrer avec certitude une telle liaison; cependant il y a des

faits qui semblent l'indiquer. On voit assez souvent à l'extrémité des calottes, là où le cil est implanté, un granule qui est parfaitement distinguable sur le fond clair de la calotte (fig. 34). Je n'ai jamais vu de bande qui réunît ce granule à la partie hyperchromatique sous la calotte ou au filament chromatique. Cependant, en considérant la liaison qui se trouve entre la calotte et le cil d'une part, et entre la calotte et la partie hyperchromatique d'autre part, il y a là, sans doute, une indication en faveur de l'hypothèse d'une relation qui existe peut-être entre le cil et la partie hyperchromatique et par conséquent entre le cil et le filament chromatique, conception qui est renforcée encore par l'existence de granule basal du cil. Il est impossible actuellement de juger définitivement cette question, très difficile à résoudre, vu l'extrême petitesse des objets.

Formes d'involution. — J'ai apporté une grande attention aux formes d'involution, afin d'éviter de les prendre pour des formes normales, dans des préparations qui n'en contiennent que quelques exemplaires.

Après la mort, le protoplasme se contracte fortement, de sorte qu'il n'en reste plus qu'un bâtonnet (fig. 46) ou une rangée de granules (fig. 45) au milieu de la cellule. La membrane cellulaire, au contraire, qui semble être très résistante, garde longtemps sa forme ordinaire. Ce protoplasme contracté peut avoir des formes très curieuses. Quelquefois c'est un bâtonnet parcourant toute la longueur de la cellule, quelquefois ce bâtonnet s'est divisé en plusieurs granules, et enfin il peut se diviser en quelques petits bâtonnets qui se sont gonflés à leurs extrémités, de sorte qu'ils ont des formes en haltère (fig. 38). Ces formes ressemblent beaucoup à quelques stades que Perrin (17) a décrits, de la division nucléaire de *Spirochæta balbianii* et particulièrement aux mêmes stades de *Sp. anodontæ* décrits par Keysselitz (9). Je serais donc incliné à interpréter ces figures, non comme des stades de division nucléaire, mais comme des formes d'involution.

La forme d'involution la plus curieuse est celle de la formation de boules protoplasmiques, entourées par la membrane cellulaire. Dans une cellule, d'une longueur anormale et amaigrie, se forme, au milieu ou quelquefois à une des extré-

mités de la cellule, un petit gonflement (fig. 41) qui commence bientôt à s'agrandir. Les alvéoles protoplasmiques deviennent souvent plus grandes et le filament chromatique semble se dissoudre (fig. 41), ce qui est d'accord avec l'affinité, plus prononcée que de coutume, du protoplasme de la tumeur cellulaire envers les matières colorantes. Pendant la croissance de la boule, la plus grande partie du contenu cellulaire va dans la boule, de sorte que les autres parties de la cellule deviennent de plus en plus pauvres en protoplasme et volutine. Dans la boule, il y a naturellement une grande accumulation de grains de volutine (fig. 47). Souvent ces grains commencent à se fusionner, de sorte qu'il ne reste enfin qu'une grande boule de volutine, qui ressemble à s'y méprendre à un noyau véri-

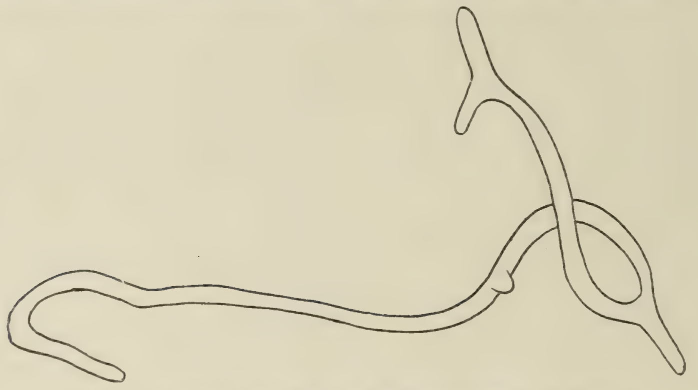


Fig. 1. — Forme ramifiée de *Sp. giganteum*. (× 2250.)

table (fig. 48). Quand la boule a acquis sa grandeur définitive, le protoplasme est composé de grandes alvéoles. Quelquefois on peut observer qu'il y a une différenciation en ecto- et entoplasme, le premier est constitué par une couche simple d'alvéoles (fig. 46), le second est situé à l'intérieur et s'en distingue par la colorabilité plus grande des parois des alvéoles, ce qui semble indiquer une chromatolyse.

Ces boules plasmatiques me semblent particulièrement intéressantes, quand on compare les résultats des recherches récentes de Prowazek (18) sur *Sp. gallinarum*. Il donne des figures de Spirochètes de grande longueur, gonflées au milieu. Il pense que ces formes prennent leur origine de la fusion de deux spirochètes de largeur inégale. Je crois plutôt qu'on a

à faire ici également à des formes d'involution et on peut se convaincre de cette grande ressemblance, en comparant mes figures à celles de Prowazek ; ce sont les mêmes masses typiques en forme de navette (fig. 39). Si ces gonflements dans la cellule de *Sp. gallinarum* sont vraiment des produits d'involutions, il y a là une concordance de plus entre les spirochètes et les spirilles. (Quant aux kystes de *Sp. balbianii*, v. la description de cet organisme.)

Le sort des boules n'est pas tout à fait clair. Cependant elles semblent éclater le plus souvent. On peut voir dans des préparations de vieilles cultures, des boules déchirées et détériorées. Le contenu soude les unes aux autres les cellules encore intactes, de sorte que dans ces préparations on n'a pas une répartition égale des cellules sur la lamelle, mais les cellules se sont agglutinées pour ainsi dire ; entre elles on voit une masse faiblement colorée, parsemée de granules de volutine libre.

Dans les cellules vieilles, on peut voir quelquefois des formes ramifiées, déjà mentionnées par Reichenbach et Ellis. J'en ai trouvé de très beaux exemplaires, qui s'étaient ramifiés à plusieurs endroits (fig. 1 du texte).

(*A suivre.*)

TRANSMISSION DE TRYPANOSOMA DIMORPHON PAR GLOSSINA PALPALIS R. DESV.

(Note préliminaire.)

Par E. ROUBAUD

MEMBRE DE LA MISSION FRANÇAISE DE LA MALADIE DU SOMMEIL

Bien que l'existence des *Glossina palpalis* dans les régions où sévit *T. dimorphon* ait été constatée d'une façon toute spéciale, aucune expérience n'est encore venue démontrer la transmission effective de ce virus par les Diptères en question. Bien plus, les expériences réalisées par Dutton et Todd en Gambie, toutes négatives malgré le nombre considérable des glossines employées, étaient de nature à troubler les conceptions normales sur la transmission de cette trypanosomiase.

Sans avoir encore pu pousser très loin la question, nous croyons pouvoir énoncer dès maintenant le résultat des deux expériences réalisées, quant à présent, par nous.

L'animal infecté (souris blanche) qui nous a servi de point de départ présentait deux types différents de trypanosomes, dans son sang. L'un, correspondant typiquement à *T. dimorphon*, nous avait été obligeamment rapporté de Guinée un mois auparavant par M. le docteur G. Martin. L'autre, provenant sans doute d'un mélange ultérieur accidentel, en différait nettement par sa forme effilée, son long flagelle, son extrémité postérieure pointue. Les deux types coexistaient à peu près en égale quantité, abondants tous deux, dans le sang de la souris.

Expér. I. — Le 30 décembre, une *G. palpalis* nourrie sur la souris infectée est portée 3 heures après sur une souris saine. Elle enfonce sa trompe avidement, de nombreuses fois, mais on ne la laisse pas se nourrir.

Le 31, une autre *G. palpalis*, ayant commencé à sucer la souris infectée, est portée immédiatement après sur la même souris saine, qu'elle pique également plusieurs fois sans se nourrir.

Résultat. — Un mois après, la souris n'est pas encore infectée.

Expér. II. — Quatre *G. palpalis*, nourries sur la souris infectée *depuis au moins 24 heures*, sont portées sur un cobaye sain, dans les conditions suivantes :

Une glossine (n° 1), infectée le 8 janvier, se gorge à fond sur le cobaye le 9 après 24 heures, et le 11 après 36 heures.

Une glossine (n° 2), infectée le 10, se gorge sur le cobaye le 11, après 24 heures.

Une glossine (nº 3), infectée le 11, se gorge sur le cobaye le 12, après 24 heures, et le 13, après 48 heures.

Une glossine (nº 4), infectée le 15, pique le cobaye le 17 après 48 heures, sans se nourrir.

Résultat : Le 27 janvier, des trypanosomes apparaissent dans le sang du cobaye, correspondant aux deux types du virus mixte initial avec prédominance de *T. dimorphon*.

Dans cette expérience, on peut mettre à part la glossine nº 4 qui n'a fait qu'enfoncer sa trompe sans absorber de sang ; d'autant que l'examen microscopique n'y a point manifesté l'existence des trypanosomes. Des trois autres mouches, deux se sont nourries deux fois sur le cobaye après un laps de temps considérable, sans réinfection préalable. Toutes sont d'ailleurs intervenues après 24 heures au moins d'infection.

Bien que la souris fût beaucoup plus sensible que le cobaye à notre virus, l'expérience I a échoué, dans laquelle pouvaient seuls être inoculés les trypanosomes demeurés dans la trompe où ils devaient être assez nombreux.

Dans l'expérience II au contraire, il semble bien que les agents de l'infection ont été les trypanosomes en culture dans l'intestin. Les glossines nº 1 et nº 3, qui ont pu se gorger deux fois à fond sur le cobaye, n'ont plus présenté de trypanosomes dans leur tube digestif, le lendemain de leur deuxième repas, alors que des glossines conservées à jeun pendant le même temps, après infection dans les mêmes conditions, en présentaient de très nombreux. De plus, des formes modifiées ont été rencontrées, encore assez nombreuses, dans la trompe de la glossine nº 3, et leur analogie avec les formes culturelles de l'intestin autorise à leur attribuer selon toute vraisemblance une origine intestinale.

On peut donc penser que les trypanosomes en culture passagère dans l'intestin des glossines remontent effectivement le tube digestif de ces insectes au moment où ils se gorgent de sang pour se déverser ensuite dans l'hôte vertébré, et constituer, beaucoup mieux que les trypanosomes restés accidentellement dans la trompe, l'élément actif d'une nouvelle infection.

C'est dans cette direction que nous nous proposons d'entreprendre les recherches ultérieures.

Brazzaville, 10 février 1907.

LES TRYPANOSOMIASES ANIMALES DE LA BASSE-COTE D'IVOIRE

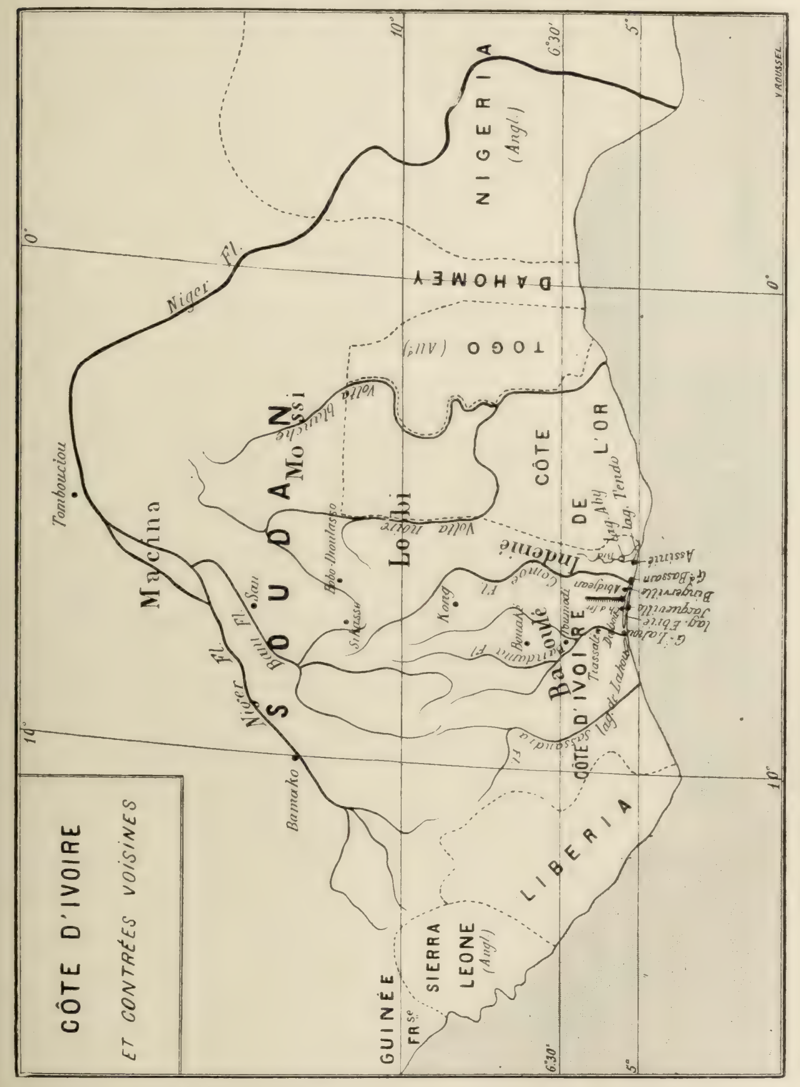
(Note préliminaire)

Par le Dr G. BOUET

MÉDECIN-MAJOR DES TROUPES COLONIALES
CHARGÉ DE MISSION SCIENTIFIQUE PAR LE GOUVERNEMENT GÉNÉRAL
DE L'AFRIQUE OCCIDENTALE FRANÇAISE

Chargé de mission scientifique à la Côte d'Ivoire, nous avons parcouru, depuis juin 1906 jusqu'en février 1907, toute la Basse-Côte, c'est-à-dire tout le pays compris entre le fleuve Sassandra, d'une part, et la frontière de la Gold Coast anglaise, d'autre part. Au nord, la limite en serait déterminée par le 6° 30' de latitude nord. Le simple examen d'une carte montre que ce pays est presque entièrement couvert d'une épaisse forêt pénétrée actuellement seulement par les voies de communication naturelles : Fleuve Comoé, la série des lagunes en bordure de la mer : lagunes Aby et Tendo, lagune Ebrié, lagune de Lahou près de laquelle vient aboutir le fleuve Bandama, seconde artère fluviale perpendiculaire à la côte. Deux routes partant des points extrêmes de navigation en vapeur des fleuves Bandama et Bia pénètrent parallèlement à ces fleuves dans l'arrière-pays : ce sont les routes de caravanes du Baoulé et de l'Indénié. Si l'on ajoute la voie ferrée actuellement au 75e kilomètre et qui est sensiblement parallèle aux deux autres voies d'accès, on se rend compte de ce que sont les moyens de communication du pays. En dehors de ces routes, il n'y a que des sentiers à peine frayés et fréquentés par les tribus voisines les unes des autres. Quant aux deux grandes artères, elles sont sillonnées par d'assez nombreuses caravanes de caoutchouc qui viennent du Soudan. Il s'y fait également un trafic, assez peu important encore, mais qui augmente de jour en jour, de bœufs venant du Soudan et qui sont vendus pour la consommation aux points extrêmes des deux routes : Tiassalé et Aboisso. De cette topographie succinctement exposée, on peut cependant déduire que les animaux domestiques en un

point donné sont des autochtones nettement séparés les uns des autres et groupés par villages, tout au plus par tribus de même race. Il n'y a aucune transhumance de bétail, et l'on



peut dire qu'un bœuf né en un point y meurt, les indigènes d'une tribu à une autre n'échangeant pas ou à peine leurs produits et en particulier leur bétail. Il n'y a pas non plus d'apport extérieur, puisque les voies de communication n'existent pas

en dehors des deux routes de caravanes dont nous avons parlé. Un indigène du pays n'achètera pas un bœuf de race soudanaise à un caravanier passant chez lui : les bœufs soudanais amenés sont uniquement destinés à l'alimentation des gros groupements européens et des indigènes qu'ils emploient.

Ceci posé, et cela nous paraissait nécessaire pour bien saisir les faits, il s'en suit qu'on se trouve en Basse-Côte d'Ivoire dans des conditions rappelant presque celles d'un laboratoire.

Les animaux domestiques qu'on rencontre dans les villages sont le bœuf, le mouton, la chèvre, le porc et le chien.

Le bœuf, sans bosse, très petit, appartient à une race nettement autochtone, dont l'ère de dispersion ne s'étend pas au delà de la zone forestière. Elle est du reste très adaptée au régime forestier et s'alimente plus de pousses d'arbres que d'herbes. D'une façon très générale, on peut tabler sur 10 à 15 bœufs par centaine d'habitants, encore que certains villages en sont totalement dépourvus. Dans certains endroits, il y a quelques pâturages (savanes à hautes herbes) et les bœufs de plusieurs villages y sont réunis, formant des troupeaux de 2 à 300 têtes (Toupa-Dabou).

Le mouton est également très répandu, race autochtone, petite, râblée, fournissant une viande passable. Presque chaque village a un troupeau de 30 à 40 têtes.

La chèvre, la même dans toute l'Afrique, est en proportion à peu près égale.

Quelques villages sur le bord de la mer ou de la lagune ont des porcs appartenant à une race assez répandue chez les peuples non musulmans de l'Afrique occidentale.

Enfin, le chien existe dans la plupart des villages. Ils sont en général maigres, efflanqués, galeux et ne vivent que des détritus qu'ils trouvent aux abords des villages, leurs maîtres négligeant de les nourrir.

Dans toute la zone précitée, il n'y a ni ânes ni chevaux. Il est depuis longtemps admis que ces animaux ne peuvent vivre à la Côte d'Ivoire. Tous les essais d'introduction ont été suivis du décès plus ou moins rapide des animaux importés.

Systématiquement, nous avons recherché chez ces divers animaux domestiques, par l'examen microscopique du sang

frais entre lame et lamelle, la présence de trypanosomes et nous avons pu la déceler chez les cinq animaux vivant au contact de l'homme : le bœuf, le mouton, la chèvre, le porc et le chien.

Relativement fréquent chez le bœuf, puisque nous avons pu trouver 50 fois le parasite sur 275 bœufs examinés, le trypanosome est rare chez le mouton : 4 à 5 cas sur plusieurs centaines d'examens ; très rare chez la chèvre : 1 seul cas sur également plusieurs centaines ; assez fréquent chez le chien et le porc : 7 à 8 cas sur une cinquantaine d'examens.

Il va sans dire qu'en général nous n'avons pu pratiquer qu'un seul examen et que par conséquent des animaux contaminés ont pu passer inaperçus, si, le jour de l'examen, leur sang ne contenait pas de parasites.

Le trypanosome rencontré nous a paru être le *Trypanosoma dimorphon* [1].

Les formes à flagelle libre, plus longues, plus mobiles, ont été plus rarement trouvées que les formes trapues, en têtard des Anglais, qui sont animées de mouvements de moins d'étendue, ne dépassant que rarement le champ du microscope. Ce trypanosome est facilement inoculable à tous les animaux de laboratoire ; la durée de la maladie expérimentale est de 10 à 20 jours, mais peut-être beaucoup plus longue chez le rat, le chien, le singe. Tous les animaux d'expérience ont succombé, mais l'infection naturelle n'est pas toujours mortelle. Nous pensons même que chez les animaux domestiques (sauf le cheval), elle est fréquemment suivie de guérison. Ces faits avaient déjà été signalés par G. Martin. Nous les confirmons. Nous avons eu pendant plusieurs mois une génisse guérie et dont le sang ne se montrait plus infectant. Malheureusement, elle est morte accidentellement quatre mois après sa guérison.

En dehors du *T. dimorphon*, nous avons rencontré chez le bœuf importé du Soudan ou du Sénégal (bœuf à bosse) par les voies que nous avons indiquées au commencement de cette note, une autre variété de trypanosomiase due au *T. cazalboui* (Laveran). Les bœufs contaminés seraient tous de la région du Bani (San-Sikasso) [2]. Nous ne faisons que signaler cette trypa-

1. Pour sa distribution géographique, voir G. MARTIN, ces *Annales*, mai 1907.
2. Depuis la rédaction de cette note, nous avons observé à Addah (au bord

nosomiase d'importation dont le danger pour la contamination de la race autochtone de la Côte d'Ivoire devait être signalé, nous réservant d'y revenir plus tard dans un travail d'ensemble. A Abidjean, tête de ligne du chemin de fer, nous pensons avoir également rencontré ce trypanosome chez les bœufs venant par mer du Fouta Sénégalais [1]. Comme Cazalbou, Laveran et Martin, nous avons constaté que ce trypanosome n'est pas inoculable au chien, au rat, au singe, mais prend très bien sur la chèvre et le mouton.

Le trypanosome rencontré chez le *mouton* est également le *T. dimorphon* dans ses deux formes : la forme à flagelle libre et la forme trapue. Chez l'unique *chèvre* contaminée : *T. dimorphon* à formes trapues. Chez le *porc*, la forme trapue a été la seule rencontrée.

Chez le *chien*, la trypanosomiase est également due au *T. dimorphon*. Cependant, dans quelques cas, nous avons cru avoir affaire à un trypanosome du type Nagana et aussi à *T. pecaudi* (Laveran). Nos études en cours nous permettront de nous prononcer plus tard.

Toutes ces trypanosomiases, comme celles du bœuf, sont inoculables aux animaux de laboratoire : rat, chien, singe, etc., et toujours mortelles. Comme pour le bœuf, nous avons eu des cas de guérison chez des animaux infectés naturellement. Nous n'avons malheureusement pu suivre nos animaux guéris que quelques mois, les ayant perdus dans un naufrage. Cependant, nous possédons encore actuellement un chien guéri depuis sept mois de *T. dimorphon* type. La forme à flagelle libre trouvée dans l'infection naturelle peut subsister dans les trois ou quatre premiers passages, mais finit en général par disparaître chez les animaux d'expérience et on n'a plus que la forme trapue.

MOUCHES PIQUANTES

Nous avons été amené à rechercher les insectes piqueurs

de la mer), un cas, incontestablement autochtone, d'infection à *T. cazalboui*, chez un jeune veau né dans la localité et qui n'a pu être contaminé par quelque bœuf soudanais ou sénégalais. La *Souma* existerait donc enzootiquement à la Côte d'Ivoire.

1. Le sang de ces bœufs renfermait aussi de nombreux Piroplasmes ressemblant morphologiquement aux *P. parvum* et *mutans* de Theiler. Nous y reviendrons en détail.

vivant à la Côte d'Ivoire. Voici un rapide exposé de nos recherches. Nous laisserons ici de côté les insectes appartenant aux Tabanides, Hippobosques et Stomoxydes, qui seront étudiés à part, pour ne parler que des Glossines.

Glossina palpalis existe dans toute la zone de la Basse-Côte d'Ivoire que nous avons visitée. Il est inutile de citer des noms de localités. On en trouve partout, surtout près des marigots, rivières, lagunes, aussi bien que dans les moindres villages de la brousse, sur la ligne du chemin de fer, en pleine forêt. Les villes du littoral : Assinie, Bassam, Jacqueville, Bingerville, Abidjean, Dabou, Grand-Lahou, en sont infestées. La mouche est répandue partout et en abondance. Les enfants envoyés à la chasse en rapportent quelques heures après cinq ou six chacun.

A noter que je n'ai pas réussi à voir un seul cas de maladie du sommeil dans toute cette Basse-Côte d'Ivoire.

Plus rare est *G. fusca*. C'est une mouche à mœurs crépusculaires. Koch a constaté qu'elle pique la nuit. Nous avons observé le même fait au passage d'une rivière vers huit heures et demie du soir. Cette mouche a la même zone de répartition que *G. palpalis*, mais elle est plus rare, plus sylvestre que citadine et harcèle surtout les troupeaux.

Enfin, nous avons trouvé la très rare *G. pallicera* à Toupa, Agaguié (chemin de fer), dans l'Indénié par 5°30' L. N., à Tiassalé sur le Bandama. Cette mouche, très peu répandue en Afrique, est introuvable à la côte, et tous les points de récolte que nous citons sont à peu près sous la même latitude où il semble que cette mouche soit cantonnée.

Dans le Baoulé, à Toumodi (L. 6°30'), nous venons de trouver *G. morsitans* tout à fait inconnue à la Basse-Côte et *G. palpalis* y est extrêmement rare.

TRANSMISSION DU T. DIMORPHON PAR GLOSSINA PALPALIS

Nous avons essayé de renouveler les expériences de Dutton et Todd sur la transmission de *T. dimorphon* par les Glossines. expériences qui n'avaient donné aucun résultat à ces savants[1].

1. On sait que *Glossina palpalis* convoie le trypanosome humain. Cazalbou (*C. R. Acad. Sciences*, 17 sept. 1906) a récemment démontré le rôle de cette mouche dans la transmission d'un trypanosome indéterminé du Soudan (peut-être s'agit-il encore du *T. gambiense*).

Après de nombreux échecs, tant en hivernage qu'en saison sèche, nous avons pu réaliser expérimentalement avec *G. palpalis* l'infection d'un chien.

Voici le résumé de notre unique expérience :

Une *G. palpalis* pique le 18 février un chien, mort le lendemain, et contenant dans son sang de très nombreux trypanosomes.

Le lendemain 19, 24 heures après, la mouche est mise sur un chien neuf qu'elle pique une seule fois. Il s'agit d'un jeune chien à la mamelle qui fut isolé tout le temps de l'expérience dans une caisse protégée.

Le chien, examiné tous les jours, montre au bout de 15 jours (6 mars) des trypanosomes dans son sang qui sont nettement des *T. dimorphon*. Ils sont très rares dans le sang, comme dans l'infection naturelle (1 à 2 par lames), les premiers jours de la maladie[1].

72 heures après la piqûre initiale, la mouche de notre expérience meurt et est immédiatement broyée dans un mortier avec quelques gouttes de solution normale de NaCl. De nombreux trypanosomes sont alors trouvés dans le liquide ainsi obtenu. Entre lame et lamelle ils sont très mobiles, à forme allongée, rappelant les formes décrites pas Tulloch et Gray.

Un rat blanc est inoculé avec environ 1 c. c. de ce liquide dans le péritoine. Jusqu'à ce jour, il n'a présenté aucun trypanosome à l'examen microscopique.

La vitalité des trypanosomes de la Glossine est très grande. 12 heures après la mort de l'insecte, ils étaient encore vivants dans la solution de NaCl, mais agglutinés par leur flagelle.

Cette expérience démontre le mode de transmission jusqu'ici seulement soupçonné du *T. dimorphon* par *G. palpalis*.

1. L'animal a succombé en moins d'un mois. Ce chien était très miséreux depuis longtemps, de plus galeux, et cet état a dû contribuer à hâter sa fin. Lettre du 18 mars 1907.)

Toumodi, le 10 mars 1907.

Recherches sur les propriétés colloïdales de l'amidon,

Et sur un mécanisme de migration de l'amidon dans les végétaux,

Par E. FOUARD

Dans une note récente [1], MM. Fernbach et Wolff ont indiqué qu'en soumettant à une température de 90° de l'amidon pur, desséché, ayant préalablement subi l'action très modérée de l'acide chlorhydrique, on obtenait un amidon soluble.

Les essais suivants ont eu pour but l'étude de cet amidon signalé par les auteurs précédents dans leurs intéressantes recherches.

D'abord, ce produit n'est pas soluble, en réalité, mais prend dans l'eau, vers 70-80°, avec une parfaite fluidité, l'état colloïdal, caractérisé par les propriétés bien connues de ces pseudo-solutions, telles que la polarisation partielle de la lumière diffractée par le liquide, le transport de l'amidon par le courant électrique, la coagulation tantôt spontanée, tantôt provoquée par modification chimique, caractères accusant tous l'existence des particules d'une solution colloïdale.

De plus, parmi tous les colloïdes d'origine protoplasmique, celui-ci présente seul un taux d'impuretés extrêmement faible, puisque la proportion d'hydrate de carbone contenu dans cet amidon atteint près de 999 pour 1000.

L'examen de ces impuretés naturelles, de leurs variations, de leur élimination m'a conduit à quelques conclusions relatives au mécanisme de la migration de l'amidon à travers l'organisme végétal.

Ayant constaté que malgré le traitement acide, l'amidon conservait encore une quantité notable de matière minérale, et pour réaliser son élimination de plus en plus profonde, j'ai entrepris, jusqu'à 5 fois successivement, le traitement acide suivi d'un épuisement prolongé à l'eau distillée et d'une dessiccation lente à l'étuve à 40°.

Un échantillon de chacun de ces 5 amidons, dérivés d'un

1. *C. R.* Tome CXL, page 1403.

même amidon de fécule Groult, d'une très grande pureté, a été mis en réserve, en vue des essais comparatifs décrits dans la suite de ce travail.

Le degré de pureté de chacun d'eux a été rigoureusement défini par le procédé suivant :

L'acidité décroissante de l'eau d'épuisement a été d'abord contrôlée au moyen des réactifs colorés usuels, jusqu'à cessation des virages colorimétriques fournis par chacun d'eux; à ce moment, l'entraînement d'acide n'est pas achevé, car l'augmentation de la conductibilité électrique de l'eau de lavage, avant et après son contact avec l'amidon à purifier, indique un entraînement que les réactifs colorés sont impuissants à déceler. En utilisant ce procédé, beaucoup plus sensible que les indicateurs chimiques, jusqu'à son extrême limite, la fixité de conductibilité de l'eau, on peut séparer ainsi, après des lavages prolongés, un amidon présentant une pureté de degré bien défini au moyen d'une constante physique, la conductibilité moléculaire de l'eau distillée en usage. On a en même temps atteint au maximum pratiquement réalisable de la purification, pour chacune des phases du traitement.

L'examen de cette pureté, pour les 5 amidons préparés successivement, conduit à des résultats de divers ordres.

I

D'abord, l'amidon obtenu conserve toujours sa même structure microscopique et présente la réaction bleu intense avec la solution d'iode. Si on l'incinère sur lame de platine, on trouve un résidu minéral dans lequel on peut déterminer du phosphore, du silicium, du manganèse, et des bases indéterminées, révélées par la coloration du manganate vert formé. Ce caractère est tout aussi nettement accusé dans l'amidon ayant subi le nombre maximum de purifications. Ainsi, ni les traitements à l'acide, ni les épuisements par l'eau n'ont pu éliminer des éléments engagés dans des composants normalement solubles ; les radicaux basiques eux-mêmes ont, en partie, résisté à l'entraînement. Les impuretés naturelles sont donc retenues avec la plus grande ténacité par l'amidon, comme si elles faisaient partie intégrante du granule et il faut considérer comme irréalisable

leur séparation absolue d'un amidon chimiquement pur, contrairement à des affirmations répétées par ailleurs.

Les poids suivants du résidu minéral, et celui de l'acide phosphorique qu'il contient, ont été mesurés dans la cendre de 100 grammes de chaque amidon obtenu.

	Grammes de matière minérale pour 1,000 grammes d'amidon.	Grammes d'acide phosphorique (en P_2O_5) pour 1,000 grammes d'amidon.	Proportion de P_2O_5 dans la matière minérale,
Amidon initial Groult.	3gr,310	1gr.390	42 0/0
Traité 1 fois nº 1	1gr,950	0gr,955	48 9 0/0
— 2 — nº 2	1gr,715	0gr,853	49 7 0/0
— 3 — nº 3	1gr,450	0gr,832	57 2 0/0
— 4 — nº 4	1gr,260	0gr,822	64 5 0/0
— 5 — nº 5	1gr,240	0gr,810	65 2 0/0

Leur examen montre d'abord que si l'acide phosphorique est un élément très important du résidu minéral, la diminution progressive des 2 quantités mesurées devient de plus en plus faible. Il est visible que le traitement devient pratiquement inefficace sur l'amidon purifié au 4e degré. On peut remarquer que le phosphore, en même temps qu'il constitue l'élément le plus important, est aussi celui qui est le plus permanent. Il en résulte que la cendre se concentre en acide phosphorique, si bien qu'en suivant les 2 séries décroissantes des poids de cendres et d'anhydride phosphorique, on les voit converger vers une limite commune, inaccessible à l'expérience et qui représenterait de l'anhydride phosphorique pur.

II

Ces résultats soulèvent alors une question : L'acide phosphorique résiduel, témoin de la présence du phosphore dans l'amidon naturel, y est-il contenu à l'état minéral? Ou bien la persistance de cet élément engagerait-elle à l'y rechercher à l'état combiné, dans une molécule organique sur laquelle l'acide chlorhydrique très étendu n'aurait aucune prise?

La réponse à ces questions est fournie par les expériences suivantes : Si l'on met en solution un quelconque des 5 amidons précédents, dont la fixité de composition, à l'état solide au contact de l'eau distillée, a été nettement réalisée, on constate que la solution, fluide, colloïdale, est douée d'une réaction acide relativement aux indicateurs colorés : la destruction de la structure granulaire a donc libéré dans le liquide une certaine acidité, qui était fixée énergiquement sur le granule.

La mesure de ces acidités, sur des solutions à 5 0/0 de chaque amidon a été effectuée d'une part par rapport au méthylorange, de l'autre, par rapport à la phtaléine du phénol, indicateurs marquant pour l'acide phosphorique les passages à l'état de phosphates primaire et secondaire.

J'ai obtenu les nombres suivants :

ACIDITÉS TOTALES ÉVALUÉES EN GRAMMES D'ACIDE PHOSPHORIQUE PO_4H_3 PAR KILOGRAMME D'AMIDON

	à la phénolphtaléine.	au méthylorange.
N° 1	2,120	1,620
N° 2	1,980	1,380
N° 3	1,870	0,480
N° 4	1,750	0,115
N° 5	1,720	0,100

D'abord, l'existence même de 2 séries d'acidités distinctes établit sans conteste l'influence d'un acide polybasique : c'est l'acide phosphorique.

Or, si l'on veut admettre que les traitements acides répétés tendent vers l'élimination complète du phosphore minéral, comme l'indiquerait la décroissance, à peine visible dans les dernières préparations, des doses pondérales du phosphore, le dernier amidon, au maximum de pureté, ne devrait sensiblement contenir que le phosphore organique, inaltéré par le traitement et dénué de toute réaction acide.

Mais cet amidon a une acidité : même celle-ci est double. Si elle ne provient pas d'acide phosphorique, faut-il l'attribuer à un autre acide, chlorhydrique, sulfurique, par exemple? Mais ceux-ci agissent de même sur les deux indicateurs ; alors il faudrait que les 2 acidités fussent à peu près égales : bien au contraire, elles présentent le maximum de divergence.

Il reste l'hypothèse d'un acide polybasique, autre que l'acide phosphorique, doué comme lui de 2 acidités différentes vis-à-vis des 2 indicateurs. Mais quel serait cet acide? C'est l'affirmation même de l'état unique du phosphore sous la forme de phosphates, dans l'amidon naturel, donnant naissance à ces 2 acidités de plus en plus distinctes, à cause de la ténacité relative de cet élément minéral, par rapport aux autres impuretés, qui s'éliminent presque totalement.

Il y lieu de remarquer que les nombres d'acidité phosphorique relatifs à la phénolphtaléine, sont tous légèrement supé-

rieurs à ceux obtenus par dosage pondéral. en transformant les poids précédents de $P_2 O_5$ en poids d'acide $PO_4 H_3$:

Ainsi dans le dernier amidon, le plus pur, à une acidité phosphorique de 1gr,720 correspond une dose pondérale de 1gr,117 d'acide phosphorique; il y a donc un excédent d'acidité évalué en acide phosphorique, qui peut représenter un faible poids d'autres acides résiduels, tels que la silice, peut-être même de l'acide chlorhydrique, provenant du traitement, fixé par teinture artificielle, comme l'est naturellement l'acide phosphorique.

III

Si l'on considère que les phosphates constituent un élément constant du milieu salin où se forme l'amidon, il résulte des expériences précédentes que celui-ci possède la propriété de se charger de certains principes minéraux, en particulier de l'acide phosphorique sous forme de phosphates acides extraits du suc cellulaire dans l'œuvre de synthèse protoplasmique.

Ce serait là un phénomène d'adhésion moléculaire, selon M. Duclaux, appartenant au domaine dans lequel il a fait entrer l'étude de la coagulation.

Dans le cas présent, la fixation de l'acide phosphorique serait-elle donc une circonstance banale, fortuite de l'évolution de l'amidon? Ou bien, au contraire, serait-elle un fait nécessaire, un rouage dans le mécanisme de la migration de l'aliment de réserve dans l'être végétal?

C'est ce dernier point de vue que sembleraient préciser les observations suivantes :

En examinant les pseudo- solutions fraîchement préparées des 5 amidons précédents, on constate que, malgré la grande fluidité du liquide, un léger trouble subsiste, séparable par une simple filtration (sur papier en cellulose pure). Le liquide qui passe a immédiatement une limpidité parfaite ; mais il présente, par rapport à la solution initiale, une différence plus importante. Si on mesure son acidité on trouve un nombre inférieur à celui obtenu pour la solution initiale, comme l'indique le tableau suivant représentant, en milligrammes d'acide phosphorique, l'acidité de 100 c. c. des solutions à 10 0/0 de chaque amidon préparé précédemment.

Amidons solubles.	Acidité de la solution trouble initiale.	Acidité de la solution filtrée limpide	Acidité de la solution trouble initiale.	Acidité de la solution filtrée limpide
	à la phénolphtaléine.		au méthylorange.	
N° 1	21,2	18,2	16,2	0
N° 2	19,8	16,7	13,8	0
N° 3	18,7	15,9	4,8	0
N° 4	17,5	15,3	1,2	0
N° 5	17,2	15,3	1,0	0

Si l'on remarque que le trouble léger, séparé par la filtration, ne représente que quelques milligrammes d'amidon sur 10 grammes employés pour faire la solution, il faut conclure que cette faible quantité d'amidon, soluble en milieu alcalin, est en même temps chargée d'une acidité relativement grande par rapport à celle de la masse totale en dissolution.

L'insolubilité de cette minime quantité d'amidon, le caractère d'acidité relativement grande de cette portion insoluble sont-ils deux faits corrélatifs? Cette question se précise en observant les solutions colloïdales filtrées, conservées aseptiquement, à différentes époques; si elles sont d'une limpidité parfaite au moment de la préparation, on les voit avec le temps se troubler d'une façon homogène, puis se prendre en gelée parfaitement blanche, et enfin, se résoudre en une matière granuleuse tendant à se séparer d'un liquide absolument limpide. Ce sont les phases successives d'une coagulation spontanée; c'est aussi une formation lente d'un amidon, insoluble dans l'eau dans l'état actuel, se dissolvant dans un alcali, c'est une rétrogradation, favorisée, comme dans les expériences démonstratives de M. Maquenne sur l'amidon, par une basse température, retardée et même empêchée par l'action constante d'une température plus élevée.

Cet ensemble de faits précise la question posée au sujet de l'insolubilité, si on la considère justement comme le terme d'une coagulation progressive.

Le phénomème de coagulation observé dans ces solutions colloïdales d'amidon résulterait-il d'une fixation d'acide sur la particule d'amidon? Le granule d'amylose coagulé serait alors un granule d'amidon à l'état colloïdal, ayant acquis une certaine charge d'acide, constituant une teinture et provoquant la contraction de l'élément vers l'état insoluble.

Il suffit, pour vérifier cette déduction, d'essayer la coagulation des mêmes amidons en présence d'un excès d'acide quel-

conque. Si l'on suit, en effet, la coagulation du même amidon soluble en tubes à essai, à la même température, avec addition franche d'acide chlorydrique, d'acide sulfurique, d'acide phosphorique, comparativement à un essai témoin sur l'amidon pur, on voit les coagulums acides dépasser rapidement ce dernier.

Donc la vitesse de coagulation est bien augmentée par un excès d'acide étranger à la solution colloïdale d'amidon.

On conçoit alors l'action antagoniste d'un excès d'alcali, par rapport à la coagulation ; tous les coagulums formés le sont par contact d'un acide, si faible que soit cette acidité ; or, ils se dissolvent dans la potasse, et la solution, à température ordinaire, est permanente en présence d'un excès d'alcali. Celui-ci a donc modifié la teinture acide du granule d'amylose coagulé, déterminant sa solubilisation.

Mais on peut encore aller plus loin dans cette voie :

L'accroissement d'acidité, cause de coagulation, présente un seul caractère commun, indépendant de la nature de l'acide, c'est l'accroissement de la proportion des ions hydrogène ; cette modification peut être provoquée autrement que par une addition d'acide libre. Ainsi, l'apport dans un amidon colloïdal d'un sel à réaction acide aux indicateurs qui, par suite du phénomène d'hydrolyse, libère en solution aqueuse des ions hydrogène, réaliserait cette condition. Par opposition, l'apport d'un sel à réaction neutre ne modifierait pas le milieu en ions H^+. D'après ces prévisions, les premiers sels seraient des accélérateurs de la coagulation de l'amidon, ceux de la 2e catégorie n'auraient aucun effet,

J'ai essayé ainsi l'action des sels de zinc (chlorure, sulfate), dont les solutions sont notoirement acides, comparativement à la solution d'amidon pur colloïdal, et à celles modifiées par des sels à réaction neutre, tels que du chlorure de sodium, de l'azotate de potasse; j'ai parfaitement constaté que les sels de zinc accéléraient la coagulation, tandis que les sels neutres ne la modifiaient nullement.

Une extension entièrement analogue peut être faite dans le sens de l'action des alcalis libres; les sels provenant d'un acide faible et d'une base forte, donnant en milieu aqueux une hydrolyse alcaline, c'est-à-dire libérant dans la solution des ions OH^-,

devront produire un effet de même ordre qu'un excès de potasse ou de soude.

C'est ce que j'ai très bien vérifié pour le phosphate trisodique, le carbonate de potasse, l'acétate de sodium, ajoutés dans un coagulum déjà produit spontanément sur un amidon pur : au lieu d'observer la continuation du procès de coagulation, c'est l'inverse qui se produit : un retour lent, progressif, vers la solubilisation, d'autant plus marqué que la dose de sel indique une réaction alcaline plus grande; ainsi, dans mes essais, c'est le phosphate trisodique qui a été le solubilisateur le plus actif.

A cet ensemble d'observations viennent s'ajouter les remarques suivantes déterminant une nouvelle propriété de l'amidon colloïdal :

Tout coagulum d'amidon, formé en milieu acide, est entraîné vers la solubilisation, soit par une élévation de température, soit par un excès d'ions OH^-.

Reversiblement, toute solution d'un amidon colloïdal peut retourner vers l'état de coagulum, soit par un abaissement de température, soit par un excès d'ions hydrogène.

Ces 2 passages peuvent s'effectuer alternativement un nombre de fois théoriquement quelconque : pratiquement, ils ont été observés avec une régularité parfaite plusieurs fois successivement, soit par des apports alternés d'acide ou de base, soit par des élévations et abaissements alternés de la température du milieu.

Cet amidon colloïdal est donc le premier colloïde organique d'une pureté définie présentant nettement la propriété de reversibilité.

En résumé, *une solution colloïdale d'amidon, contenant une proportion fixée d'ions hydrogène à une température donnée, se trouve dans un état d'équilibre réversible, modifiable dans un sens ou dans l'autre par une variation très faible vers l'acidité ou l'alcalinité.*

Ce serait là toute l'explication du mécansime des transformations de l'amidon, dans le sens physique d'une solubilisation ou d'une coagulation : Si le sulfate de zinc, par exemple, accélère une coagulation d'amidon au même titre que de l'acide chlorhydrique, ce ne peut être en vertu d'une action chimique commune, car ces deux corps sont absolument dissemblables.

Si d'autre part l'acide phosphorique accélère la coagulation de l'amidon tandis que le phosphate trisodique solubilise le

coagulum d'amidon formé, on ne peut attribuer au radical phosphorique une action chimique déterminée.

Il faut donc abandonner les explications d'un caractère purement chimique dans ces phénomènes de coagulation réversible de l'amidon colloïdal : les expériences précédentes tendent vers une théorie physico-chimique basée, d'abord sur la démonstration de l'adhérence énergique, de la teinture du granule d'amidon par sa « gangue minérale », ensuite sur celle de l'unique caractère, commun à tous ces éléments minéraux sensibles, l'antagonisme des ions H^+ et OH^-, venant modifier la charge électrique du granule, soumis alors dans sa masse à des forces de cohésion et à des forces électriques variables qui tendent soit à sa contraction, c'est-à-dire à la forme solide, soit à son « relâchement », c'est-à-dire à la forme soluble.

IV

L'acide phosphorique, à l'état de phosphates plus ou moins acides, en raison de sa très grande capacité d'absorption basique, et aussi des grandes différences que présentent ses 3 fonctions acides, jouerait bien ce rôle de sensibilisateur ou de mordant dans le mécanisme profond de la vie cellulaire, lors de la formation colloïdale de l'amidon dans le protoplasma.

En effet, la présence simultanée d'amidon en formation dans le leucite et des phosphates apportés par le suc cellulaire, dans un milieu à réaction acide représentent les conditions nécessaires d'une adhésion des molécules de phosphate acide, par l'intermédiaire de leurs ions H^+, aux granules d'amidon; par suite une formation colloïdale peut se produire, correspondant à un certain état d'équilibre. Si l'acidité augmente, à l'apparition d'un acide organique, par exemple, l'équilibre précédent est rompu dans le sens d'un accroissement des ions H^+, constituant des phosphates plus acides, augmentant les forces de cohésion, et par suite la tendance à la solidification, conformément aux expériences faites sur l'action des acides.

Si, à un autre état du milieu correspond une réaction acide décroissante ou même alcaline, les effets inverses se produisent, la gaîne de phosphates emmagasine des ions OH^-, d'où solubilisation et tendance de l'amidon vers sa forme migratrice.

Les phosphates joueraient de plus, dans ce mécanisme, le rôle de régulateurs de la réaction du milieu dans les leucites où s'accomplit la synthèse amylacée.

Une méthode de contrôle de cette interprétation physique, par des observations de physiologie végétale, nécessiterait la connaissance des variations continues que présentent la réaction des leucites et des milieux dont ils sont tributaires, d'abord le protoplasme, ensuite le suc cellulaire : d'où la nécessité de mesures d'alcalinités, d'acidités de ces différentes parties de la cellule, soit au moment de la synthèse de l'amidon, soit aux époques de régression de ce corps vers la forme soluble. Peut-être, par cette voie directe, le problème présente-t-il des difficultés insurmontables.

Ce que la Botanique possède, en tous cas, et qui constitue actuellement une connaissance de valeur purement qualitative, c'est que le protoplasma présente ordinairement une réaction neutre ou légèrement alcaline, tandis que le suc cellulaire est en général légèrement acide [1]. D'autre part, on sait que le protoplasma, à certaines époques, acquiert une réaction acide [2] trop faible d'ailleurs pour pouvoir, à elle seule, attaquer les grains d'amidon dans le sens d'une saccharification.

Il résulte donc bien de ces données encore imprécises, fournies par la phyisiologie végétale, que la réaction du milieu dans lequel s'élabore l'amidon est un facteur variable de la vie cellulaire et par suite peut-être une cause de variation des états physiques de cet hydrate de carbone, obéissant aux nécessités de son évolution.

Je tiens à remercier vivement MM. Fernbach et Wolff pour leurs renseignements gracieusement donnés sur les préparations d'amidon soluble, et je désire exprimer ici toute ma gratitude à M. Etard qui, en suivant ces expériences, s'est intéressé à mes idées, en les soutenant de ses conseils techniques dans l'exécution de ce travail.

1 et 2. Van Tieghem, *Traité de botanique*, pages 528 et 515.

Les Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur

EN 1906

PAR M. JULES VIALA

Préparateur au service antirabique

I

Pendant l'année 1906, 773 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur : 2 sont mortes de rage. Mais, chez une d'entre elles, la rage s'est déclarée moins de 15 jours après la fin du traitement, elle doit être défalquée pour le calcul de la mortalité.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	772
Mort	1
Mortalité 0/0	0,13

Le nombre des personnes traitées se rapproche de celui de l'année dernière (727).

II

Années.	Personnes traitées.	Morts.	Mortalité.
—	—	—	—
1886	2.671	25	0,94 0/0
1887	1.770	14	0,79 —
1888	1.622	9	0,55 —
1889	1.830	7	0,38 —
1890	1.540	5	0,32 —
1891	1.559	4	0,25 —
1892	1.790	4	0,22 —
1893	1.648	6	0,36 —
1894	1.387	7	0,50 —
1895	1.520	5	0,33 —
1896	1.308	4	0,30 —
1897	1.521	6	0,39 —
1898	1.465	3	0,20 —
1899	1.614	4	0,25 —
1900	1.420	4	0,28 —
1901	1.321	5	0,38 —
1902	1.105	2	0.18 —
1903	628	2	0,32 —
1904	755	3	0,39 —
1905	727	3	0,41 —
1906	772	1	0,13 —

III

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants.

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — Personnes pour lesquelles la rage de l'animal mordeur est constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — Personnes mordues par des animaux suspects de rage. Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1906.

ANNÉE 1906	MORSURES à la TÊTE			MORSURES aux MAINS			MORSURES aux MEMBRES			TOTAUX		
	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.
Tableau A......	20	1	5	93	0	0	60	0	0	173	1	0,57
Tableau B......	40	0	0	227	0	0	129	0	0	396	0	0
Tableau C......	6	0	0	106	0	0	91	0	0	203	0	0
	66	1	1,5	426	0	0	280	0	0	772	0	0,13

IV

Au point de vue de leur nationalité, les 772 personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

Angleterre..................................	1
Hollande..................................	22
Russie..................................	1
Grèce..................................	1

Soit 747 Français et 25 étrangers.

Il ne faut pas oublier, dans la comparaison avec les tableaux antérieurs, que cinq Instituts antirabiques fonctionnent aujourd'hui qui n'existaient pas autrefois : Marseille, Lille, Montpel-

lier, Lyon et Bordeaux drainent les mordus dans la région environnante.

V

RÉPARTITIONS PAR DÉPARTEMENTS DES 747 FRANÇAIS TRAITÉS

Aisne	3	Maine-et-Loire	13
Allier	3	Manche	16
Aveyron	4	Marne (Haute-)	9
Cantal	19	Meurthe-et-Moselle	10
Calvados	21	Morbihan	12
Charente	8	Nièvre	5
Côte-d'Or	3	Orne	12
Côtes-du-Nord	40	Puy-de-Dôme	6
Corrèze	6	Rhin (Haut-)	9
Creuse	9	Saône (Haute-)	37
Doubs	21	Sarthe	6
Eure-et-Loir	11	Sèvres (Deux-)	4
Finistère	50	Seine	208
Garonne	8	Seine-et-Marne	4
Ille-et-Vilaine	24	Seine-Inférieure	5
Indre	13	Seine-et-Oise	24
Jura	10	Somme	7
Loire-Inférieure	7	Vaucluse	2
Loiret	10	Vendée	22
Loir-et-Cher	12	Vienne	8
Lot	27	Vienne (Haute-)	6
Lot-et-Garonne	4	Vosges	9

VI

PERSONNE TRAITÉE MORTE DE RAGE APRÈS LE TRAITEMENT.

Lair, Auguste, 39 ans, cultivateur, demeurant à Donjean (Manche). Mordu le 3 août, au nez. Une morsure profonde nécessitant 3 points de sutures. Au front, 3 morsures pénétrantes. Ces morsures n'ont pas été cautérisées.

Lair a été traité à l'Institut Pasteur du 5 au 26 août.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 9 octobre,

Il meurt de rage le 12 octobre.

Mordu par un chien reconnu enragé par M. Esmieu, vétérinaire à Torigny-sur-Vire. Les animaux inoculés le 4 août, avec le bulbe de ce chien, ont été pris de rage le 27 août.

VII

PERSONNE TRAITÉE, MORTE DE LA RAGE MOINS DE 15 JOURS APRÈS LA FIN DU TRAITEMENT

CHANARD, Lucien, 5 ans, demeurant chez ses parents, à Saint-Julien-le-Châtel (Creuse). Mordu le 12 janvier, au front, côté gauche. Une plaie pénétrante, longue de 6 centimètres, réunie par 4 points de sutures.

La plaie a saigné et a été lavée à la liqueur de Van Swieten de suite ; CHANARD avait été mordu par un chien reconnu enragé par M. le docteur Bonnet, de Gouzon.

Traité à l'Institut Pasteur du 15 janvier au 6 février, il est mort le 16 février.

Le même chien a mordu au nez une autre personne, qui subi le traitement antirabique et qui se porte bien.

Sur le traitement de la rage par le radium.

Par le Dr A. CALABRESE

Professeur chargé de la thérapie clinique à l'Université royale.

Laboratoire de la deuxième clinique médicale de Naples.

Seconde réponse à MM. le professeur Tizzoni et Dr Bongiovanni.

Les *Annales de l'Institut Pasteur* ont donné dans le numéro du 25 février 1907, un article de moi « sur le traitement de la rage par le radium ». Cet article avait été envoyé à la rédaction des *Annales* dès le mois de septembre 1906 et reproduisait des faits déjà publiés dans le n° 78 de *Gazzetta degli Ospedali* (1er juillet 1906).

Le professeur Tizzoni et le docteur Bongiovanni répondirent dans les *Annales de l'Institut* du 25 mars 1907, en m'accusant « d'erreur dans la méthode et dans les idées ».

Sur l'erreur de méthode, MM. Tizzoni et Bongiovanni s'expriment en ces termes :

« En insistant sur les expériences pratiquées au moyen de radium renfermé dans un tube de verre maintenu devant l'œil à une distance d'un 1/2 centimètre, il fait l'effet de n'avoir pas compris que, dans ce cas-là, les radiations qui se perdent sont plus nombreuses que celles qui sont utilisées. »

Eh bien, je ne puis à ce propos que répéter ce que j'ai déjà dit[1], c'est-à-dire que dans quelques expériences j'ai maintenu le tube contenant le radium à la distance d'un 1/2 centimètre de l'œil, parce que les mêmes MM. Tizzoni et Bongiovanni ont écrit, dans leur 3e communication (*Gazetta degli Ospedali*, n° 127, 1905, page 1333) : « Dans ce cas le radium restait toujours à une distance d'un 1/2 centimètre de la surface de la cornée. »

Dans ces conditions ils affirment que dans *toutes* leurs expériences ils ont obtenu des résultats positifs : il était donc tout naturel de procéder aux expériences comme ils l'avaient fait eux-mêmes.

1. *Gazzetta degli Ospedali*, n° 78, 1906 ; *Annales de l'Institut Pasteur*, n° 2, 1907.

Quant à la dispersion des rayons, si les auteurs *croient* l'avoir évitée *en fixant le tube avec le radium au fond d'une petite écuelle de plomb*, moi, de mon côté, dans quelques expériences, j'en ai fait autant, en me servant d'*un petit entonnoir en plomb que j'ai fait construire exprès*, ainsi que je l'ai déclaré dans ma publication précédente (*Gazzetta degli Ospedali*, n° 78, 1906, page 810); mais même dans ces expériences je n'ai obtenu que des résultats négatifs.

Je n'ai donc commis aucune erreur de méthode.

Arrivons maintenant aux erreurs d'idée :

1° Les auteurs disent : « Le Dr *Calabrese*, en affirmant que les radiations sont les émissions du radium qui passent facilement à travers le mica et le verre, montre ne pas savoir que quelques-unes d'entre elles, les rayons X, par exemple, sont *complètement* arrêtées par les milieux susmentionnés. »

Eh bien, avant tout, je n'ai point du tout donné cette définition des radiations; mais j'ai seulement distingué les *émanations*, courants gazeux, qui ne passent pas à travers le verre et le mica, des *radiations* qui traversent[1] ces substances. Cette distinction est acceptée par tout le monde et ne préjuge point du pouvoir de pénétration des diverses espèces de rayons, c'est-à-dire des rayons α, β et γ, ces derniers seuls étant reconnus identiques aux rayons X.

Mais les auteurs n'ont pu faire allusion à ces derniers rayons, qui loin d'être arrêtés par le verre, sont au contraire les plus pénétrants. Il s'agit certainement d'une faute d'impression : ils ont sans doute voulu parler des rayons α, qui ont une très faible puissance de pénétration, puissance qui n'est pourtant pas *complètement* nulle, comme ils l'affirment.

Dans tous les cas, l'erreur que les auteurs ont voulu m'attribuer, c'est eux-mêmes qui l'ont commise, puisque, dans leur 3e communication (*Gazetta Ospedali*, N° 127, 1905, page 1333), ils cherchent de résoudre la question de savoir à laquelle des trois espèces des rayons est due l'action du radium et ils se préoccupent d'exclure les rayons α au moyen d'un abri d'aluminium de 1/10 d'épaisseur, ou bien en les déviant par un aimant, en même temps que les rayons β.

1. Il est à noter que le mot *facilement* a été ajouté par le Traducteur, et qu'il ne se trouve pas dans l'original italien. (*Gazz. Osp.* N° 78, 1906.)

Les auteurs croyaient donc que les rayons α passaient à travers le verre et le mica. Voilà pourquoi cette erreur d'idée a été commise par eux et non par moi ;

2° MM. Tizzoni et Bongiovanni ajoutent : « En invoquant les émanations comme cause déterminante de la lésion locale, il montre qu'il ignore que celle-ci est causée *exclusivement* par les radiations. »

Cette accusation est d'autant plus étrange que c'est justement les auteurs qui, dans diverses publications, ont déclaré que c'étaient précisément les émanations qui produisaient les altérations des tissus. En effet, dans leur 3e communication (*Gazzetta Ospedali*, n° 127, octobre 1905, page 1333, colonne 2e, alinéa 2°) ils disent : « Étant données ces conditions, par lesquelles les émanations du radium étaient exclues dans nos expériences, on doit penser que c'est à elles que l'on doit attribuer les altérations qu'il produit sur la partie. »

Et plus bas (*ibidem*, alinéa 3°) : « Ce que nous pouvons affirmer... c'est qu'avec le radium renfermé dans un tube de verre soudé à la lampe, les altérations susmentionnées manquent absolument : il est donc certain (continuent les auteurs) que, les émanations une fois excluses, même après une longue application sur l'œil, d'une durée de 12 heures, le radium ne détermine *jamais* aucune lésion. »

Et dans un article plus récent (*Gazzetta Ospedali*, 12 août 1906, page 1002, dernier alinéa) : « Ces lésions sont en rapport direct avec la force de l'échantillon que l'on emploie, respectivement avec la quantité d'*émanations* qui s'échappent de l'appareil. »

D'autre part, comment pouvais-je ignorer que les lésions locales étaient produites par les radiations, si elles se produisirent dans mes expériences, dans lesquelles j'ai toujours employé le radium enfermé dans des tubes de verre soudés à la lampe, sachant bien que les émanations étaient exclues?

Mais ces émanations sont-elles vraiment inoffensives et *complètement* inoffensives? Point du tout, du moment qu'elles sont par elles-mêmes une source abondante de radiations, ainsi qu'on le sait fort bien; et l'eau, chargée d'émanations, injectée dans les tumeurs, les dissout par son action histolitique.

Je n'ignorais pas que les lésions produites par le radium sur l'œil des lapins étaient dues aux radiations. Et, d'autre part,

même les émanations ne sont pas tout à fait dépourvues d'action locale ;

3° Enfin, les auteurs disent : « En attribuant au radium des altérations aussi grâves et aussi étendues que le décollement de la peau intéressant la moitié de la face, il prouve qu'il ne sait pas que le radium détermine des lésions limitées exclusivement au point de son application. »

Eh bien, en rapportant mes expériences, j'ai parlé non pas seulement de décollement des parties molles, mais j'ai dit que chez les lapins qui ont survécu plus de deux ou de trois semaines, l'application du tube de radium directement sur l'œil produisait : *la chute des cils, un processus ulcératif des paupières sans ulcération de la cornée, processus ulcératif qui s'étendait aux parties molles contiguës* jusqu'à produire leur décollement *sur la moitié de la face.*

En autres termes, les paupières et les parties molles de la moitié de la face qui se trouvaient être sous l'influence directe des radiations présentaient des ulcérations.

Or, pourquoi chercher une autre cause à ces lésions, qui sont justement celles que tous les auteurs ont obtenues avec le radium?

Ici finissent les accusations portées contre moi par MM. Tizzoni et Bongiovanni.

Et maintenant je puis, à mon tour relever des contradictions dans plusieurs articles de MM. Tizzoni et Bongiovanni. Par exemple ils déclarent que les expériences sur le virus *in vitro n'étaient jamais pratiquées au moyen de seuls échantillons de radium enfermés dans des tubes soudés à la lampe* (*Gazetta Ospedali*, n° 96, 12 août 1906, page 1001.) Mais ils oublient ce qu'ils ont écrit dans leur 3e communication, où nous lisons : « Sauf en quelques expériences dans lesquelles on fit usage du radium en solution... *dans les autres expériences in vitro* et dans toutes celles *in vivo*, on employa le radium à l'état solide *dans un tube de verre fermé et soudé à la lampe*, et beaucoup plus souvent dans l'appareil d'Armet de Lisle, dont la paroi antérieure est fermée par une mince lame de mica *fermant bien.*

Or, dans les quelques expériences (fût-ce même en une seule) où l'on s'est servi du tube de verre fermé à la lampe, et où les émanations furent par conséquent exclues, on aurait dû avoir

des résultats négatifs. En effet MM. Tizzoni et Bongiovanni, contrairement à ce qu'ils avaient avancé dans leurs communications précédentes, affirment maintenant que les seules radiations sont inactives, et que l'action du radium est due aux émanations, ou bien aux émanations en même temps qu'aux radiations; c'est du moins ce qu'ils écrivent dans leur article le plus récent (*Gazzetta Ospedali*, n° 42, 9 avril 1907). Et pourtant, dans leurs trois premières communications, les auteurs ont déclaré avoir *toujours* obtenu, dans *toutes* les expériences, des résultats constamment positifs.

Et je n'en dis pas davantage; de mon côté la polémique est close. Je me suis laissé entraîner à répondre parce que j'ai été accusé d'une erreur de méthode que je n'avais pas commise.

Je fais seulement observer que deux ans se sont écoulés, depuis que MM. Tizzoni et Bongiovanni ont annoncé que le radium était capable de détruire le virus rabique *in vitro* et de guérir la rage déclarée chez *le lapin* et le chien; il semble que le problème du traitement de la rage devrait être sur le point d'être résolu. Aujourd'hui au contraire les mêmes auteurs paraissent douter de pouvoir guérir la rage chez l'homme; et pour ce qui se rapporte aux recherches expérimentales, tous ceux qui se sont occupés du sujet ont, comme moi, obtenu des résultats négatifs.

LE RADIUM ET LA RAGE

Dernière réponse au Dr Calabrese.

Par le professeur Guido TIZZONI et le Dr Alessandro BONGIOVANNI.

Nous aussi, nous pensons que cette polémique doit prendre fin ; elle s'éloigne de l'étude des faits pour ne plus porter que sur leur interprétation.

Voici en quels termes la question doit se poser : Le radium a-t-il ou n'a-t-il pas le pouvoir de détruire le virus rabique *in vitro*, et dans l'organisme ? Nous répondons résolument : « Oui ! » Cette affirmation se trouvera largement et absolument démontrée dans le travail complet qui va paraître à la librairie Bemporad et Cie; M. Calabrese pourra y trouver facilement, tant les conditions précises dans lesquelles le phénomène a lieu, que les raisons de ses insuccès.

Au reste, nous ne pouvons nous empêcher de répéter ici qu'il n'y a absolument rien d'étonnant à ce que l'on ait été amené, par les progrès des recherches, à modifier certaines interprétations.

Il nous semble que pour soutenir ses propres idées et combattre celles des autres il n'est pas permis de faire des citations, sans se préoccuper si, dans la suite, elles ont été modifiées ou mieux développées ? Enfin, est-il licite d'extraire d'une publication quelques données pour les appliquer à un objet autre que celui auquel elles se rapportent ?

Ainsi, pour nous en tenir à un seul exemple, le Dr Calabrese cite ce que nous avons dit dans une de nos communications préliminaires (*Gaz. degli Ospedali*, no 96, 1906, page 1001) que dans la plupart de nos expériences *in vitro*, et sur l'animal, nous avons employé du radium à l'état solide ; de là il conclut que nous avons obtenu, dans l'éprouvette, des résultats positifs même avec le radium renfermé dans un tube de verre soudé à la lampe (donc avec rigoureuse exclusion des émanations), ce qui serait en effet en contradiction ouverte avec ce que nous avons soutenu en diverses occasions (nous avons même publié à ce sujet deux travaux spéciaux) à propos de la

nécessité de la présence des émanations pour la destruction du virus en question.

Eh bien ! il suffit de lire les deux phrases qui précèdent et celles qui suivent le fragment cité par le Dr Calabrese pour se persuader facilement que cette citation ne concerne en rien les effets destructifs que le radium exerce sur le virus rabique, mais bien les altérations qu'il peut produire chez l'animal, au point de son application.

Voilà qui suffit — nous semble-t-il — pour juger la polémique du Dr Calabrese. Nous nous abstiendrons d'autres réfutations qu'il nous serait cependant facile de faire.

Sur le traitement de la rage par le radium

Par le Dr A. CALABRESSE

Dernière réponse a MM. Tizzoni et Bongiovanni

La dernière réponse de MM. Tizzoni et Bongiovanni m'autorise à relever les faits suivants :

1° Les auteurs n'ont point démenti que j'ai employé, dans mes expériences, des méthodes identiques à celles employées par eux-mêmes dans certaines expériences. On ne peut par conséquent pas parler d'erreur de méthode, puisque avant leur communication on ne connaissait aucune méthode d'application du radium au traitement de la rage;

2° Dans la troisième communication (*Gazz. d. Osped.* (n° 127 p. 1333), les auteurs déclaraient de la façon la plus explicite que dans certaines expériences *in vivo* et *in vitro* ils s'étaient servi du radium renfermé dans un tube de verre soudé à la lampe. Mon objection que, dans ces dernières expériences, les résultats auraient du être négatifs, par manque de l'action des *émanations*, garde donc toute sa valeur. Les auteurs ont bien répondu que par cette méthode ils s'étaient proposés d'étudier les altérations que le radium peut produire chez l'animal au point d'application, et non pas l'action destructive du radium sur le virus rabique ; mais cette justification n'est pas admissible puisque eux-mêmes, je l'ai déjà dit, affirmèrent avoir usé le radium renfermé dans un tube de verre soudé à la lampe dans les expériences *in vitro ;*

3° Tous les détails que les auteurs pourront donner sur les méthodes employées dans leur travail complet ne suffiront pas à détruire le fait sus dit;

4 La réponse négative à la demande : « *le radium peut-il détruire le virus rabique*? » a été donnée non seulement par moi, mais par tous les auteurs qui ont fait des expériences à ce sujet.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

JOSEPH GRANCHER

Le professeur Grancher a succombé le 13 juillet à une pneumonie infectieuse. Cette mort met de nouveau l'Institut Pasteur en deuil.

J. Grancher faisait partie du comité de ces *Annales* depuis leur fondation ; il avait succédé en 1905 au regretté Wallon en qualité de président du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur.

Grancher était à la fois anatomo-pathologiste, bactériologiste et clinicien. Son importante thèse sur l'unicité de la tuberculose a inauguré ses travaux sur cette maladie, dont il n'a cessé de s'occuper pendant toute sa vie.

Un des premiers parmi les jeunes maîtres de l'Ecole de médecine, il comprit l'importance des changements que les travaux de Pasteur apportaient dans la médecine ; aussi, dès 1883, vint-il demander à Pasteur d'être admis dans son laboratoire à côté de son ami Straus qui y travaillait déjà. Pasteur et ses collaborateurs étaient alors occupés à l'étude de la rage, Grancher suivait leurs recherches avec le plus vif intérêt et lorsque, le 6 juillet 1885, Joseph Meister, horriblement mordu par un chien enragé, fut conduit au laboratoire de la rue d'Ulm, il se joignait à Vulpian pour décider Pasteur à essayer sur l'homme le procédé d'immunisation récemment expérimenté sur le chien. Grancher qui n'avait pas hésité à prendre sa part de responsabilité dans cette première et célèbre tentative fut dès lors mêlé à la vie du laboratoire. Puis, survinrent les attaques passionnées contre le traitement prophylactique de la rage ; avec Charcot et Brouardel, Grancher défendit la bonne cause avec une conviction et un dévouement qui lui valurent l'amitié de Pasteur. Par cette campagne, il avait conquis sa place parmi les élèves du maître et lorsque la méthode antirabique eut triomphé et que fut ouverte la souscription publique qui a servi à fonder l'Institut

Pasteur, Grancher devint successivement secrétaire, vice-président et président du Conseil d'administration.

En 1883, Grancher avait remplacé Parrot dans sa chaire de clinique infantile; il apportait dans cet enseignement les doctrines pastoriennes et tout d'abord il organisa son service de façon à empêcher les contagions. Observateur plein de sagacité, il perfectionna les procédés de diagnostic précoce de la tuberculose et rassembla ses études sur le sujet dans son livre sur les *Maladies de l'appareil respiratoire*. Grancher était un remarquable professeur, exposant ses idées avec une clarté et une précision parfaites. Dans son laboratoire où il attirait de jeunes disciples pleins de zèle, il avait entrepris avec Hippolyte Martin les premiers essais d'immunisation des animaux contre la tuberculose.

Grancher s'affirmait comme un chef d'école, et l'on attendait beaucoup de lui quand la maladie vint arrêter son activité. Des souffrances presque continuelles, des insomnies cruelles, lui rendaient le travail de plus en plus difficile et, malgré tout son courage, Grancher dut renoncer au labeur régulier. Cette impuissance à réaliser ce qu'il avait commencé, tout autant que la souffrance, attristait Grancher sans l'abattre. Ne pouvant lutter contre la tuberculose, comme il l'aurait voulu, par ses travaux scientifiques, Grancher la combattit quand même en fondant l'œuvre de la « Protection de l'enfance contre la tuberculose ». En quelques mois elle fut en pleine prospérité, grâce à la générosité de Mme Grancher et à l'action que Grancher exerçait sur tous ceux qui l'approchaient. La maladie avait bien pu incliner sa haute taille et pâlir son visage, mais elle n'avait pu altérer la distinction naturelle de sa personne et diminuer l'autorité morale que lui donnait l'élévation de son caractère.

Grancher a donné le bel exemple d'un homme se distrayant de ses propres souffrances en travaillant à soulager celles des autres.

21me ANNÉE JUILLET 1907 N° 7

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

DE L'ANAPHYLAXIE EN GÉNÉRAL

et de l'Anaphylaxie par la mytilo-congestine en particulier.

Par M. CHARLES RICHET

I

APERÇU HISTORIQUE

J'ai appelé *anaphylaxie* (contraire de la protection) la propriété curieuse que possèdent certains poisons d'augmenter, au lieu de diminuer, la sensibilité de l'organisme à leur action [1].

Bien entendu je ne fais pas allusion ici à la sensibilité des animaux tuberculeux à la tuberculine, découverte il y a longtemps, et bien étudiée ; car alors le phénomène se complique de l'évolution microbienne : je ne parle que de l'anaphylaxie simple, c'est-à-dire d'un poison soluble intoxiquant gravement un organisme dans lequel ce poison soluble avait déjà été injecté. Je crois bien qu'en réalité les phénomènes observés sur les animaux tuberculeux après injection de tuberculine relèvent de l'anaphylaxie. Mais on ne les a pas encore, même aujour-

1. P. Portier et Ch. Richet, De l'action anaphylactique de certains venins, *Bull. de la Soc. de Biol.*, 1902, 170-172, et *Trav. du lab. de Physiologie*, V, 1902, 506-509. — Ch. Richet, De l'anaphylaxie ou sensibilité croissante des organismes à des doses successives de poison, *Arch. di Fisiologia*, I, 1904, 129-142. — Notizen über Thalassin. *A. g. P.*, 1905, CVIII, 369-388. — Des poisons contenus dans les tentacules des actinies, congestine et thalassine, *Bull. de la Soc. de Biol.*, 1903, 246-248. — Anaphylaxie par la mytilo-congestine, *Ibid.*, 1907, (1), 358-360. — Mesure de l'anaphylaxie par la dose émétisante, *Ibid.*, 1907, (1), 643-645. — Des effets prophylactiques de la thalassine et anaphylactiques de la congestine dans le virus des actinies, *Ibid.*, 1904, 302. — De l'action de la congestine sur le lapin et de ses effets anaphylactiques, *Ibid.*, 1905, (1), 109-112. — De l'anaphylaxie après injection de congestine chez le chien. *Ibid.*, (1), 112-115. — Anaphylaxie après injections d'apomorphine. *Ibid.*, 1905, (1), 955-957.

d'hui (1907), envisagés à ce point de vue. A plus forte raison avant que l'anaphylaxie ne fût connue.

Il faut aussi laisser de côté les faits d'*accumulation*, signalés par les médecins, après l'emploi de la digitale ou de l'arsenic. Car l'explication est probablement, sinon certainement, différente de l'explication de l'anaphylaxie par les toxalbumines. Cependant, en 1894, un physiologiste italien, Aducco, a observé qu'à 2 ou 3 jours, ou même 4 jours de distance, la cocaïne, injectée à des chiens, trouve un animal de plus en plus sensible [1]. Aducco ne peut décider avec certitude s'il s'agit d'une action cumulative ou d'une sensibilité plus grande de l'organisme, quoique il penche vers cette hypothèse. En réalité les expériences d'Aducco se comprennent fort bien, en admettant que toute la cocaïne, au bout de 3 ou 4 jours, n'est pas complètement éliminée. D'ailleurs la plus grande sensibilité observée par Aducco ne porte que sur la facilité plus grande avec laquelle se fait, pour une même dose de cocaïne, l'ascension thermique due aux contractions musculaires tétaniques de l'animal.

Antérieurement à mes recherches on ne peut signaler que quelques observations éparses.

Knorr [2] injectant de la toxine tétanique à des cobayes, a dû renoncer à les immuniser par des injections répétées; car ils deviennent *quelquefois* plus sensibles, au lieu d'acquérir l'immunité.

Moi-même, sans comprendre le moins du monde le sens de l'expérience, j'ai vu en 1898 que des chiens recevant du sérum d'anguille supportaient mal cette seconde injection et finissaient par dépérir [3].

Plus tard Behring et Kitashima, reprenant les expériences de Knorr, ont observé que certains cobayes étaient d'une sensibilité croissante aux injections de toxine tétanique. Mais ils ont vu là quelque chose de tout à fait particulier à l'organisme du cobaye [4].

1. Action plus intense de la cocaïne quand on en répète l'administration à court intervalle. *Arch. ital. de Biol.*, 1894, XX, 32-43.

2. *Experimentelle Untersuchungen über die Grenzen der Heilungsmöglichkeit des Tetanus*, Marburg, 1895, 18.

3. Ch. Richet et Héricourt. Effets lointains des injections de sérum d'anguille, *Bull. de la Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898, 137.

4. Ueber Verminderung und Steigerung der ererbten Giftempfindlichkeit, *Berl. klin. Woch.*, 1901, 157-163.

En réalité le phénomène avait été à peine soupçonné avant mes expériences de 1902.

Depuis cette époque de nombreuses recherches confirmatives ont été faites.

ARTHUS, à l'Institut Pasteur de Lille, a eu l'ingénieuse idée que CALMETTE (comm. orale) lui a suggérée, d'appliquer à l'étude du sérum de cheval les faits de toxicologie générale que j'avais établis pour le poison des actinies [1], et il a trouvé que les secondes injections provoquent des accidents locaux rapides que ne provoque jamais la première injection. Dans le laboratoire d'ARTHUS, à Marseille, D. BRUN a fait sur le même sujet de nombreuses et décisives expériences, consignées dans sa thèse inaugurale [2].

Éclairés par les expériences des physiologistes, les médecins ont à leur tour repris la question. Même, presque en même temps qu'ARTHUS, quelques jours après, PIRQUET et SCHICK [3] montraient que les enfants auxquels on injecte du sérum antidiphtérique, témoignent d'une sensibilité croissante. MARFAN [4] a discuté avec soin, en la contestant d'ailleurs, cette anaphylaxie des enfants après les premières injections de sérum. TUFFIER, tout récemment [5], l'a observée après les premières injections de sérum antitétanique.

BATTELLI a étudié l'anaphylaxie par une méthode différente [6]. Il a montré que l'extrait des globules de chien, qui est inoffensif pour les lapins normaux, devient toxique pour les lapins ayant reçu antérieurement des injections intra-péritonéales de globules.

Des physiologistes américains, ROSENAU et ANDERSON [7], ont étudié la sensibilité du cobaye (ayant reçu des mélanges de toxine et d'antitoxine diphtérique) à l'injection de sérum de cheval. THEOBALD SMITH avait montré que les cobayes devien-

1. Injections répétées de sérum de cheval chez le lapin, *Bull. de la Soc. de Biol.*, 1903, 817-821. M ARTHUS et M. BRETON. Lésions cutanées produites par les injections de sérum de cheval chez le lapin anaphylactisé par et pour ce sérum. *Ibid.* 1903, 1478.

2. Contribution à l'étude de l'anaphylaxie. Thèse de Montpellier, 1905. Voir aussi R. LÉPINE, sur l'anaphylaxie. *Sem. Médic.* 1er mars 1905.

3. Die Serum Krankheit, *Deuticke*, *Wien*, 1905. — Zur Frage des Aggressins. *Wien. klein*, *Woch.*, 1905, 431-434.

4. *Leçons sur la diphtérie*, Paris, 1906.

5. *Bull. de la Soc. de chir.* et *Presse médicale*, 1907, 336, 22 mai 1907.

6. L'anaphylaxie vis-à-vis des globules sanguins chez les animaux immunisés, *Bull. de la Soc. de Biol.*, 1905, (1), 450-452.

7. A study of the cause of sudden death following the injection of horse serum, *Bull. of Hygien. Laborat.*, avril 1906, XXIX, Washington.

nent très sensibles à l'injection de sérum de cheval, quand ils ont reçu, 10 ou 12 jours auparavant, des injections d'épreuve de sérum de cheval antidiphtérique [1]. ROSENAU et ANDERSON ont repris cette étude, en même temps que OTTO, et ont prouvé que les cobayes meurent toujours après injection seconde de sérum de cheval, même à dose très faible. Tout récemment, dans deux importants mémoires, A. BESREDKA et E. STEINHARDT [2] ont étudié la même question, et ils ont pu découvrir un fait nouveau des plus intéressants, à savoir qu'il y a des substances anti-anaphylactiques, soit le sérum même de cheval injecté dans le péritoine, ou à dose très faible dans le cerveau, pendant la période qui précède l'anaphylaxie. Il y a là un problème très difficile à résoudre; et la question des anti-anaphylactisants, ouverte par BESREDKA et STEINHARDT, sera évidemment féconde en conséquences [3].

Mais, dans le mémoire qui va suivre, je ne me suis pas proposé d'étudier le phénomène de l'anaphylaxie à tous les points de vue qu'il comporte. J'ai seulement voulu étudier le mécanisme physiologique de l'anaphylaxie, après injection d'une substance toxique homogène.

II

PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS DE LA MYTILO-CONGESTINE

J'avais constaté que le liquide extrait du corps des moules (*Mytilus edulis*) contenait une substance spéciale désignée par moi sous le nom de *thalassine*, et qui se trouve en grande quantité

1. Voy. OTTO, *Leuthold Gedenksschrift*, 1906.
2. De l'anaphylaxie et de l'anti-anaphylaxie vis-à-vis du sérum de cheval, *Ann. de l'Institut Pasteur*, XXI, 117-127, et Du mécanisme de l'anti-anaphylaxie. *Ibid.*, avril 1907, 80.
3. Voy. aussi NICOLLE, Sur le phénomène d'Arthus, *Ann. de l'Institut Pasteur,* avril 1907.
4. Les expériences dont je vais donner ici la relation ont été toutes faites avec le mytilo-congestine, dont je décris la préparation et les propriétés. Antérieurement mes expériences avaient porté sur l'actino-congestine, extraite des tentacules des actinies.
— Les chiffres de dose toxique sont tous exprimés en centigrammes, et rapportés à 1 kilogramme d'animal.

dans les tentacules des actinies. Je ne décrirai pas ici les propriétés de la thalassine. Qu'il me suffise de dire que c'est un corps azoté (10 0/0 d'azote), cristallisable, soluble dans l'alcool, ne se détruisant pas par la chaleur, et ayant la curieuse propriété de déterminer, après injection intraveineuse, un prurit généralisé, et parfois des érythèmes sur la peau, et des papules sur les muqueuses.

En même temps que la thalassine, les actinies contiennent un autre poison que j'ai appelé *congestine*, pour rappeler sa propriété caractéristique, à savoir de déterminer la congestion intense, presque hémorrhagique, de l'estomac, de l'intestin et du péritoine, parfois aussi de la plèvre et de l'endocarde.

La congestine est insoluble dans l'alcool; mais, après précipitation par l'alcool, elle se redissout dans l'eau. Elle est détruite par l'ébullition. C'est une albumose.

Or le liquide qu'on peut extraire par expression du corps des moules possède, quoique à un moindre degré, les propriétés du liquide des actinies, aussi bien pour les phénomènes de prurit que pour les phénomènes de congestion. J'a donc préparé une mytilo-congestine par les mêmes procédés que j'avais employés pour préparer l'actino-congestine.

25 kilos de moules bien fraîches, encore vivantes, sont broyées avec leur coquille; et la masse est additionnée de son volume d'eau distillée. On laisse reposer pendant une heure et on décante; le liquide décanté est précipité par trois fois son volume d'alcool à 95° et on essore. La partie solide est alors mise à digérer avec trois ou quatre fois son volume d'eau distillée, et filtrée sur papier Chardin après addition de quelques gouttes de chloroforme, pour empêcher les fermentations. D'ailleurs on procède aussi rapidement que possible, et, au fur et à mesure que le liquide bien limpide filtre, on le fait tomber dans de l'alcool à 95°, ce qui détermine un précipité. Quand la filtration et la précipitation sont achevées, on laisse le précipité se déposer, et on décante. Le précipité est alors repris de nouveau par l'eau, filtré, et précipité par l'alcool. Ce dernier précipité, lavé à l'alcool, est mis sous la cloche à vide, en présence d'acide sulfurique. Au bout de quelques jours, il est tout à fait sec, et peut être réduit en poudre homogène. C'est la préparation que j'emploie et que j'appelle congestine. On peut, pour la

purifier davantage, la redissoudre de nouveau dans l'eau, et de nouveau, après filtration, la précipiter par l'alcool.

C'est une poudre blanche, qui brunit un peu à l'air, qui se redissout en totalité dans l'eau, et ne contient que des traces de matière minérale. Elle précipite par l'acide nitrique, la chaleur et l'alcool.

Malgré ces trois précipitations successives par l'alcool, cette congestine retient encore de la thalassine, et souvent les chiens injectés ont présenté des phénomènes de prurit, comme après les injections de thalassine.

Injectée à des chiens normaux, la mytilo-congestine provoque les mêmes accidents que l'actino-congestine, c'est-à-dire, à dose modérée, vomissement, défécation, diarrhée. Cette diarrhée est parfois accompagnée de selles sanglantes, et d'un ténesme rectal très prolongé. L'animal se tient courbé en deux, comme s'il ressentait de violentes coliques. Souvent il est plongé dans un état de torpeur et d'abattement qui est au maximum une heure après l'injection, et qui généralement, 4 ou 5 heures après l'injection, a à peu près disparu.

Si la dose a été très forte, l'animal meurt, au bout de 2, 3, 4 ou 5 jours : à l'autopsie, on trouve une injection hémorrhagique intense de tout l'appareil intestinal. La muqueuse de l'intestin (et parfois aussi celle de l'estomac) est revêtue d'un enduit rouge jaunâtre, muqueux, épais. Quelquefois même l'intestin est rempli de sang liquide. Parfois aussi il y a du sang dans le péritoine, et une exsudation hémorrhagique dans les plèvres.

Il est bien évident que cette mytilo-congestine peut être considérée comme une substance relativement pure ; en effet elle est insoluble dans l'alcool à 50°; et, reprise par l'eau, elle se redissout en totalité. Mais d'autre part il est possible que plusieurs substances aient cette double propriété, de sorte que je n'oserais dire que la mytilo-congestine est une espèce chimique définitivement caractérisée.

Le rendement est variable. Après quatre précipitations, on peut avoir 25 grammes de mytilo-congestine, avec 25 kil. de moules.

III

DE LA DOSE ÉMÉTISANTE, ET DE LA MESURE DE L'ANAPHYLAXIE PAR LA DOSE ÉMÉTISANTE

Si l'on injecte de la mytilo-congestine en solution très diluée (3 gr. 3. par litre) dans la veine saphène d'un chien, on voit souvent le vomissement apparaître; et, pour peu que l'injection soit faite avec lenteur, on peut connaître avec assez d'exactitude quelle est la dose émétisante.

Le plus souvent le vomissement est précédé d'une période de nausée. L'animal fait des mouvements de déglutition, se lèche, paraît *préoccupé*, absolument comme les individus qui souffrent du mal de mer. Mais je ne prends pas ces indices précurseurs, quelques nets qu'ils soient, comme indices du vomissement, je ne prends que le vomissement lui-même, qui est en général violent, répété, douloureux et intense. Comme je n'expérimente que sur les animaux à jeun, il ne peut être question d'un vomissement alimentaire : ce sont des vomissements de mucosités gastriques et de bile.

Avec l'augmentation de la dose injectée, les vomissements n'augmentent pas. Au contraire il semble qu'une période de calme succède à la période d'agitation : on peut même dire que le vomissement clôt la période d'agitation. Si la dose est plus forte encore, la période de calme devient une période de prostration, une somnolence demi-comateuse, dont l'animal ne se réveille que lorsque on l'excite.

Sur les chiens normaux, n'ayant jamais reçu d'injection intra-veineuse d'aucune sorte, la dose de mytilo-congestine provoquant le vomissement est extrêmement variable.

Voici un tableau qui résume mes expériences à ce sujet. La dose est exprimée en centigrammes par kilogramme d'animal.

Chiens n'ayant pas vomi :

	A la dose de :
Plutarque.....................	0.5
Aristippe.....................	0.6
Socrate.......................	2.1
Laerte........................	3.0
Criton........................	3.3
Cébès.........................	3.3

Lysimaque	4.2
Phédon	4.3
Hésiode	6.5
Eurylas	6.6
Hipparque	6.8
Pausanias	6.9

Chiens ayant vomi :

	A la dose de :
Hippias	0.3
Aristide	0.4
Hercule	0.5
Hécate	1.0
Hermès	1.1
Solon	1.4
Zénon	1.5
Aristophane	1.6
Phidias	2.2
Pénélope	3.0
Calchas	5.6
Télamon	7.0
Tirésias	7.0
Timon	8.6

Il ne faut pas être surpris de ces différences. Même avec d'autres poisons, avec un alcaloïde cristallisable et défini comme l'apomorphine, la dose émétisante est variable chez les divers chiens. J'ai montré en effet que certains chiens vomissent à la dose de 0,00018, tandis que d'autres ne vomissent pas à la dose de 0,0005 [1].

Aussi la comparaison ne peut-elle être faite avec profit que sur les mêmes chiens.

J'ai donc dû établir quelle a été, pour les différents chiens expérimentés, la dose émétisante, dans la période d'anaphylaxie, en la comparant avec la dose émétisante de la première injection.

	Jours d'intervalle.	Dose émétisante absolue de la seconde injection.	Si 100 a été la dose émétisante primitive, quelle fut la dose émétisante après anaphylaxie ?
Pénélope	14	0.5	17
Calchas	17	1.5	23
Hermès	21	0.12	11
Aristophane	26	0.65	50
Hercule	32	0.25	50
			Moy. = 25

Ces cinq expériences, très simples, sont suffisantes pour

1. Anaphylaxie par injections d'apomorphine, *Bull. de la Soc. de Biol.*, 10 juin 1905, 955-957.

établir *que la dose émétisante après anaphylaxie du 14e au 32e jour n'est que le quart de la dose émétisante primitive.*

Mais nous avons expérimenté sur d'autres chiens encore, dans des conditions assez diverses; 1° En mélangeant la mytilo-congestine à du sérum, lors de la première injection.

Chiens n'ayant pas vomi :

	A la dose de :
Antisthène	6.5
Harmodius	6.9
Diomeda	7.0
Ulysse	7.0

Chiens ayant vomi :

	A la dose de :
Chrysippe	0.6
Apelle	0.6
Nicias	0.7
Philippe	2.2

2° Chiens ayant reçu antérieurement d'autres injections (sérum, eau distillée, ou autres substances).

N'ayant pas vomi :

Lycaon	3.
Daphnis	4.
Marsyas	4.5
Chloé	5.0
Polybe	5.0
Cratès	5.3
Protée	5.6
Miltiade	5.6
Achille	5.6
Antoine	8.0

Ayant vomi :

Thrasybule	0.4
Matho	0.6
Ajax	1.6
Thraséas	5.
Orphée	5.5
Pélée	5.6

Lorsque ces divers chiens ont été anaphylactisés, il y a eu (pour ceux qui avaient vomi lors de la première injection) :

	Jours d'intervalle.	Dose émétisante absolue de la seconde injection.	Si 100 a été la dose émétisante primitive, quelle fut la dose après anaphylaxie ?
Nicias	14	0.2	28
Ajax	19	2.0	125
Philippe	21	0.27	11

Pélée	30	0.45	8
Apelle	44	n'a pas v. à 4.0	
Chrysippe	50	0.25	50

Mais nous devons faire entrer dans cette statistique les chiens n'ayant pas vomi lors de la première injection. Le calcul de la dose émétisante dans ce cas est assez arbitraire. Nous supposerons — ce qui est défavorable à notre hypothèse d'une action anaphylactique — que la dose donnée a été émétisante, alors qu'en réalité, comme elle ne l'a pas encore été, il faudrait majorer cette dose d'une quantité inconnue, peut-être très considérable, pour atteindre la vraie dose émétisante. Nous restons donc, en supposant qu'alors il y a eu vomissement, bien au-dessous du *minimum* de la dose émétisante primitive.

Cela dit, voici le tableau final qu'on peut donner.

	Jours d'intervalle.	Dose émétisante absolue de la seconde injection.	Si 100 a été la dose émétisante primitive, quelle fut la dose après anaphylaxie?
Criton	10	1.2	37
Pénélope	14	0.5	17
Nicias	14	0.2	28
Eurylas	14	1.0	15
Phédon	15	0.8	10
Achille	17	2.6	46
Calchas	17	1.5	23
Cébès	18	0.4	19
Protée	19	0.65	11
Ajax	19	2.00	125
Hermès	21	0.12	11
Philippe	21	0.25	11
Miltiade	21	0.12	2
Aristophane	26	0.65	41
Pélée	30	0.45	8
Pausanias	32	n'a pas v. à 2.5	?
Hercule	32	0.25	50
Lysimaque	36	n'a pas v. à 6.2	?
Hésiode	36	0.25	4
Ulysse	43	n'a pas v. à 6	?
Antisthène	43	— à 4	?
Diomeda	43	— à 5.5	?
Apelle	44	— à 4	?
Cratès	45	2.6	50
Chrysippe	50	0.25	50

L'étude de ces chiffres nous permet de séparer ces animaux en deux groupes, selon que l'anaphylaxie est étudiée dans les 30 premiers jours, ou plus tard du 30e au 50e jour.

Dans les 30 premiers jours, sur 15 chiens, il y en a 14 qui ont été plus sensibles à la seconde injection qu'à la première.

La seule exception est *Ajax*. Mais *Ajax* avait reçu, 4 jours avant l'injection de mytilo-congestine, une injection intra-veineuse d'eau distillée (10 c.c. par kil.), ce qui l'avait probablement sensibilisé.

Mais, même en tenant compte de cette exception (qui est d'ailleurs insignifiante, puisque pour *Ajax* la première dose émétisante a été de 1.6 et la deuxième dose émétisante : 2.0), la moyenne est caractéristique. Soit la dose émétisante primitive moyenne = 100, la dose émétisante seconde (après anaphylaxie) a été de 28; et, si l'on élimine *Ajax* de la moyenne, de 20. Ce qui revient à dire ceci, qui est d'importance fondamentale :

Dans les 30 premiers jours qui suivent l'injection de mytilo-congestine, les chiens vomissent après injection d'une dose qui n'est que le cinquième de la dose émétisante primitive.

Mais, à partir du 30e jour, les effets ne sont plus les mêmes. Sur 10 chiens anaphylactisés, il y en a 6 qui n'ont pas vomi. L'un d'eux, *Apelle*, qui avait primitivement vomi à 0.6, n'a pas vomi à 4, 44 jours après la première injection. Au 36e jour il y eut encore un effet anaphylactique manifeste pour *Hésiode*, qui vomit à la faible dose de 0.25, soit à une dose 25 fois plus faible que la dose émétisante primitive.

On peut donc de là conclure que vers le 50e jour l'anaphylaxie a à peu près disparu, et qu'elle s'affaiblit à partir du 30e jour.

Mais, par l'étude seule de la dose émétisante, nous pouvons conclure quelque chose de plus : c'est qu'à la période d'anaphylaxie succède une période d'immunité (relative), ou, si l'on veut, de prophylaxie, de sorte que nous pouvons formuler cette proposition, dont l'importance n'échappera à personne, c'est que *l'anaphylaxie est la première étape de la prophylaxie.*

Pour le démontrer, nous avons trois expériences précises portant sur la dose émétisante. Il s'agit des trois chiens *Socrate*, *Aristophane*, *Pénélope*, qui ont reçu trois doses successives de mytilo-congestine.

1° *Socrate* reçoit 2.1 le 18 janvier; puis 2.3 le 2 février; puis 3.0 le 13 février; et à aucune de ces 3 doses il ne vomit; le 16 mars, soit 58 jours après la première injection, il vomit à 5.6; et le 10 mai, soit 103 jours après la première injection, il vomit à 15.0; dose considérable qui a d'ailleurs déterminé la mort

2° *Aristophane*, le 28 février vomit à 1.6; au 26e jour, soit en pleine période d'anaphylaxie, il vomit à 0.65; et au 49e jour, le 4 avril, il ne vomit pas à 15.1. (On peut dire qu'il était alors prophylactisé.)

3° *Pénélope*, le 16 mars vomit à 3; le 28 mars, au 12e jour, elle vomit à 0.5; le 29 avril, au 44e jour, elle ne vomit qu'à 9.0.

Par conséquent chez ces trois chiens, à la période d'anaphylaxie a succédé vers le 44e, le 49e, le 103e jour, une période de prophylaxie.

IV

DE LA DOSE TOXIQUE ET DE LA MESURE DE L'ANAPHYLAXIE PAR LA DOSE TOXIQUE

La mytilo-congestine, lorsqu'elle est injectée dans les veines d'un chien, est toxique à dose relativement faible. J'ai étudié plus haut ses effets physiologiques ; je n'insisterai ici que sur la dose toxique.

Tout d'abord il faut remarquer que, même à très forte dose, elle ne tue pas immédiatement des chiens non anaphylactisés.

Timon reçoit le 15 février 8.6. Il ne vomit pas d'abord ; mais, 2 heures après l'injection, il a des vomissements abondants et de la diarrhée. Le 18 février, il ne paraît pas très malade ; il meurt dans la nuit du 19 au 20 février.

Aristide reçoit le 18 février 9.3. Aussitôt après l'injection, il ne paraît pas très malade ; il court, joue et aboie joyeusement. Le lendemain, il n'est pas très malade. Pourtant il meurt le 20 février.

Ainsi des doses toxiques ne tuent qu'au bout de 24 ou 48 heures.

C'est cette dose toxique que nous allons déterminer. Pour cela, je donnerai ici la liste, encore qu'elle soit assez longue, de tous les chiens sur lesquels j'ai expérimenté. Bien entendu, j'éliminerai de cette liste tous chiens ayant reçu antérieurement d'autres injections, ou recevant, en même temps que la mytilo-congestine, du sérum ou d'autres substances.

Plutarque.......	0.5	Survit
Aristippe........	0.6	—
Hécate..........	1.0	—
Aristophane.....	1.6	—

Hercule.........	2.0	Survit.
Socrate.........	2.1	—
Phidias.........	2.2	—
Hermès.........	3.0	—
Laerte..........	3.0	—
Criton..........	3.3	—
Cébès...........	3.3	—
Lysimaque......	4.2	—
Phédon.........	4.3	—
Solon...........	5.3	—
Calchas.........	5.6	—
Pénélope........	5.6	—
Hésiode.........	6.5	—
Hipparque......	6.8	—
Pausanias......	6.9	—
Télamon........	7.0	—
Tirésias..........	7.0	—
Zénon...........	7.0	Mort en 80 heure
Timon..........	8.6	— 108 —
Hippias.........	9.0	— 108 —
Aristide.........	9.3	— 48 —

Ainsi de ce tableau il résulte nettement que des doses inférieures à 7 ne tuent jamais, et que, même à 7, il y eut survie (2 fois sur 3), de sorte que l'on peut considérer la dose toxique comme voisine de 7.5 en chiffres ronds.

Cela posé, voyons quelle a été la dose toxique chez les chiens anaphylactisés.

	Jours d'intervalle.	1re dose.	2e dose.	Sort de l'animal.	1re + 2e dose
Criton.........	10	2.8	5.1	Mort 6 heures.	7.9
Eurylas........	13	5.8	3.0	Mort 12 —	8.8
Socrate........	13	2.1	2.3	Survit.	4.4
Pénélope......	14	5.6	1.0	Survit.	6.6
Phédon........	15	4.3	1.6	Mort 12 heures.	5.9
Calchas........	17	5.5	2.0	Mort 24 —	7.5
Phidias........	21	2.2	0.7	Survit.	2.9
Hermès........	21	3.0	5.6	Mort 12 heures.	8.6
Cébès.........	23	3.3	1.0	Mort 12 —	4.3
Aristophane...	26	1.6	1.4	Survit.	3.0
Pausanias.....	33	6.9	2.5	Survit.	9.4
Hercule.......	32	2.0	2.5	Mort 12 heures.	4.5
Lysimaque....	36	4.2	6.2	Survit.	10.4
Hésiode.......	36	6.5	6.5	Mort 12 heures.	13.0

1° Quoique nous ayions compté *Phidias* parmi les chiens survivants, il faut noter qu'après injection de la dose très faible de 0.7, il a été extrêmement malade, si bien que je croyais qu'il ne survivrait pas. L'injection est faite à 4 h. 15. Alors aussitôt il est sur le flanc. La respiration est dyspnéique et profonde. Il ne peut même pas relever la tête. Les yeux sont hagards. Il défèque et urine involontairement. Il y a abolition presque totale des réflexes, et il ne réagit pas quand on lui

pince la patte. A 5 h. 45, il est dans le même état. On doit le porter dans sa niche. Le lendemain matin, il est un peu moins malade, et finalement il survit;

2° On ne peut attribuer la mort à une accumulation du poison; car, même en supposant qu'au bout de 15 à 30 jours il n'y ait pas eu une parcelle de la mytilo-congestine injectée qui ait été détruite ou éliminée, on trouve en additionnant les deux doses :

Phédon, mort au	15e	jour à	5.9
Cébès	—	23	—	4.3
Hercule	—	32	—	4.5

3° Ce qui frappe dans ces accidents d'anaphylaxie, c'est leur soudaineté. Tout de suite le système nerveux est profondément atteint. Il y a anesthésie, akinésie. Le chien ne peut plus se tenir debout; il titube, fléchit sur ses pattes, ayant l'attitude des animaux dont le cerveau a été lésé par une ablation des circonvolutions rolandiques.

4° Vers le 32e jour, les effets de l'anaphylaxie commencent à disparaître. *Pausanias*, au 32e jour, a survécu à une dose de 2.5. *Lysimaque*, au 36e jour, a survécu à la dose de 6.2.

On peut donc conclure de cette première série d'expériences que l'anaphylaxie commence à s'atténuer vers le 32e jour, mais qu'elle n'a pas encore complètement pris fin au 36e jour. En effet *Hésiode*, au 36e jour, est mort rapidement après injection de 6.5, dose qui n'est pas mortelle chez un animal normal.

Pour étudier les effets à longue distance de l'anaphylaxie, il convient d'ajouter encore quelques expériences qui établiront que la résistance de l'animal a été augmentée, si on l'éprouve plus de 40 jours après la première injection.

Socrate a reçu....	2.1	le 18 janvier.
—	2.3	le 2 février.
—	3.0	le 13 —

Alors le 16 mars on lui donne 11.4, dose très forte, certainement mortelle chez un chien normal; pourtant il n'est pas malade, ou à peine, et survit. Son poids n'a que peu varié.

	Kilos.	
16 mars.....	8.7	= 100
18 —	8.0	= 92
20 —	8.0	= 92
22 —	8.4	= 96

24	mars....	8.6	=	99
3	avril.....	9.0	=	104

Je dois dire que cette immunité n'est que relative et ne va pas jusque à faire supporter une dose beaucoup plus forte. Ce même *Socrate* reçoit le 10 mai 15.0 : immédiatement il n'est pas très malade ; mais le lendemain, il est mourant, avec des vomissements répétés et du sang dans les fèces : il meurt dans la nuit du 11 au 12,

De même *Aristophane*, que je supposais prophylactisé par des injections successives, meurt après l'injection de la très forte dose de 15.1, le 5 avril, dans la journée, 24 heures après l'injection. Mais, immédiatement après l'injection, il ne paraissait nullement malade.

	Doses.
Le 18 février.....	1.6
Le 16 mars......	1.4
Le 4 avril........	15.1

Aussi bien faut-il distinguer les effets immédiats et les effets consécutifs. L'anaphylaxie détermine des accidents immédiats ; quelques minutes, *quelques secondes même après l'injection, les accidents les plus graves apparaissent, tandis que chez les chiens normaux ces accidents immédiats sont faibles, et que chez les chiens prophylactisés ils sont nuls.*

La dose toxique, mortelle, ne donne que des renseignements insuffisants, car l'effet de la sensibilisation anaphylactique est de se manifester immédiatement, dès que la substance toxique est injectée.

On a vu, plus haut que, par l'étude de la dose émétisante, nous avions établi que l'anaphylaxie est la première étape de la prophylaxie.

Si l'on veut bien suivre les effets, sur l'organisme du chien, de cette première injection de mytilo-congestine, il faut étudier la marche du poids de l'animal.

On voit alors qu'il s'agit d'une véritable affection organique consécutive à l'injection du poison, tout à fait assimilable à une maladie microbienne, qui détermine une dénutrition générale et une perte de poids qui peut atteindre et dépasser 1 0/0 par 24 heures.

Prenons d'abord les chiens ayant reçu une première injection de mytilo-congestine.

Voici quels ont été leurs poids, au bout de 20 jours environ.

	Dose en mytilo-congestine (centig. par kil. d'animal).	Au bout de ? jours.	Si le poids primitif = 100, quel poids ?
Hercule	2.0	25	77
Socrate	2.1	15	94
Phidias	2.2	22	80
Laerte	3.0	15	87
Hermès	3.0	21	88
Cébés	3.3	21	92
Phédon	4.3	15	90
Lysimaque ...	4.2	21	95
Pénélope	5.6	14	81
Calchas	5.5	17	80
Eurylas	5.8	15	91
Pausanias	6.5	21	101
Hésiode	6.5	21	96
Tirésias	7.0	20	79
Télamon	7.0	15	94
			Moy. = 88

Donc, au bout de 20 jours en moyenne, ces chiens avaient perdu 12 0/0 ; ce qui est l'indice d'une dénutrition profonde.

Il semble que l'influence de la dose ne soit pas aussi prépondérante qu'on pourrait le supposer d'abord. Si l'on fait dans ce tableau deux groupes, selon que la dose a été supérieure ou inférieure à 4, on a :

VI ch. de 2.0 à 3.3 Moy. du poids = 86
IX ch. de 4.3 à 7.0 Moy. du poids = 93

Il serait imprudent de conclure qu'avec une dose faible (de 2 à 3), la dénutrition est plus intense qu'avec une dose forte (de 4.5 à 7). Mais tout au moins peut-on dire qu'il n'y a aucune proportion rigoureuse entre la dose et la dénutrition. La réaction de l'organisme à la substance toxique fait que l'organisme est malade, et la maladie qu'il fait alors est, dans une assez large mesure, indépendante de la dose du poison : la dénutrition étant fonction plutôt de la réaction de l'organisme à l'intoxication que de la quantité même de substance toxique.

Ce qui doit nous confirmer dans cette opinion, c'est que ces mêmes chiens, lorsqu'ils survivent à l'injection seconde (anaphylactique), ne présentent plus de perte de poids comparable. Et on ne peut objecter que c'est parce qu'ils avaient maigri de tout l'amaigrissement dont ils étaient capables ; car les chiens peu-

vent fort bien, sans mourir, supporter une diminution de poids de 30 et 35 0/0.

Mais je ne peux donner ici de statistique; car sur ces 15 chiens, il y en a 10 qui sont morts des suites de l'injection seconde, et les 5 autres n'ont pas été expérimentés encore. Je me contenterai de mentionner le fait que *Socrate*, après avoir reçu 2 injections, en reçoit une 3e au 58e jour, très forte, et qu'il ne baisse de poids que pendant 5 à 6 jours.

Aristophane reçoit une injection seconde au 26e jour : son poids baisse peu, et rapidement l'animal se remet.

	Kilos.	
16 mars 2e injection....	8.500	= 100
18 — —	8.000	= 94
20 — —	7.900	= 93
22 — —	8.600	= 101
24 — —	8.400	= 99
28 — —	8.500	= 100
2 avril —	8.500	= 100

Ainsi, dès le 6e jour, il était revenu à son poids primitif.

Lysimaque reçoit une injection seconde au 36e jour, et son poids ne se modifie pas.

9 avril, 1re injection.....	8.500	= 100
23 — —	7.800	= 92
7 mai, —	8.200	= 96
15 mai, 2e injection......	8.100	= 95
17 — —	8.200	= 96
21 — —	8.200	= 96
25 — —	8.200	= 96

Nous aurons d'ailleurs l'occasion de développer ces faits importants quand nous étudierons l'action des injections mélangées à du sérum, ou faites sur des chiens ayant reçu au préalable des injections de sérum.

IV

EFFET DES INJECTIONS DE MYTILO-CONGESTINE MÉLANGÉES *in vitro* AVEC DU SÉRUM

J'ai étudié les effets de la mytilo-congestine mélangée *in vitro* soit au sérum normal de chien, soit au sérum de chien anaphylactisé par une injection antérieure. Le mélange était fait à proportions égales, c'est-à-dire que pour 50 c. c. de mytilo-congestine, à 6gr,6 par litre, il y avait addition de 50 c. c. de sérum.

Mélange avec le sérum normal.

Chrysippe......	4.6	Survit.
Antisthène......	6.5	—
Harmodius.....	6.9	—
Philippe........	7.0	—
Ulysse.........	7.0	—

Au point de vue anaphylactique, les effets ont été sensiblement les mêmes.

	Jours d'intervalle	1re dose.	2e dose.	Sort de l'animal.	1re + 2e dose.
Philippe.....	21	7.0	4.0	Mort.	11.0
Ulysse.......	43	7.0	6.0	Survit.	13.0
Antisthène...	43	6.5	4.0	—	10.5
Chrysippe...	50	4.6	5.0	—	9.6

En somme ces animaux se sont comportés à peu près comme les chiens injéctés avec la mytilo-congestine en solution aqueuse. Nous pouvons donc ajouter ces chiffres à ceux qui ont été donnés plus haut.

Toutefois, il y a cette différence que l'injection de mytilo-congestine mélangée au sérum paraît être notablement moins toxique que l'injection de mytilo-congestine en solution aqueuse.

En effet, si nous prenions au 20e jour environ les poids des animaux injectés, nous trouvons les chiffres suivants :

Philippe.......	100
Ulysse........	109
Chrysippe.....	100
Antisthène....	96
Harmodius...	82
Moy. =	98

Cette moyenne est assez différente de celle que nous avons vue chez les chiens normaux. (Moy. = 88.)

D'autres chiens précédemment injectés, depuis un temps plus ou moins long, par diverses substances, ont été aussi expérimentés.

Lycaon........	2.9	Survit.
Daphnis.......	4.0	—
Ajax...........	5.6	—
Achille........	5.6	—
Antoine.......	8.0	—
Thrasybule....	9.0	—
Matho.........	9.6	—

Il semblerait résulter de là que les chiens injectés anciennement ont été plus résistants ; mais je n'oserais en rien conclure.

Ce qu'il faut noter, c'est que lors de la seconde injection tous ces chiens ont résisté.

	Jours d'intervalle.	1re dose.	2e dose.	Sort de l'animal	1re + 2e dose.
Ajax........	19	.	3.8	Survit.	9.1
Achille......	17	.6	3.3	—	8.9

Cette expérience me paraît fort intéressante. *Ajax* et *Achille* n'ont pas présenté d'anaphylaxie, peut-être parce que l'injection d'eau distillée (*Ajax*) et de sérum artificiel qui leur avait été faite 4 jours avant l'injection première de mytilo-congestine avait déjà provoqué des phénomènes réactionnels empêchant l'anaphylaxie. En effet, des chiens normaux, au 19e et au 17e jour après la première injection de mytilo-congestine, sont très fortement anaphylactisés et ne résistent pas à une injection de 3.8 ou de 3.3. (*Phédon*, *Calchas*, *Phidias*, *Hermès.*)

Il me paraît bien évident qu'une injection inoffensive, comme celle du sérum artificiel ou de l'eau distillée, détermine dans l'organisme une réaction — (Est-ce une action sur les globules ?) — qui modifie la marche de l'anaphylaxie et l'empêche de se produire. Il est possible que l'injection d'une substance quelconque, voire même d'eau distillée, ait une action anti-anaphylactique.

Aussi, pour avoir des expériences rigoureusement comparables, ne peut-on prendre que des chiens n'ayant pas encore subi d'injection intraveineuse, même à six mois de date. Je compte d'ailleurs étudier methodiquement l'effet de ces injections aqueuses simples, faites dans le système veineux, sur la marche de l'intoxication.

V

EFFETS PRODUITS *in vitro* PAR DES INJECTIONS DU SÉRUM DES CHIENS ANAPHYLACTISÉS

Une de ces expériences a été remarquable, et tellement nette qu'elle établit en toute certitude que *le sérum des chiens anaphylactisés contient une substance qui produit l'anaphylaxie.*

Je crois devoir la donner ici avec détail.

Le 23 février, *Phidias* reçoit 2.2 de mytilo-congestine. Il n'est pas très malade; pourtant il rend par le rectum du sang mélangé aux matières fécales.

Le 14 mars il est encore très amaigri. Alors on lui retire de l'artère fémorale du sang (175 c. c.) et 4 heures après, quand

le sérum s'est à peu près complètement séparé du caillot, on injecte ce sérum, mélangé à quelques globules, à *Diogène*. (85 c. c. de sérum de *Phidias*.)

Le 16 mars on injecte divers chiens avec de la mytilo-congestine (*Pénélope*, *Aristophane*, *Pélée*, *Protée*, *Socrate*, *Calchas*, *Ajax*, *Phidias*, *Achille* et *Diogène*).

Pénélope......	5.6	chien neuf.
Calchas.......	5.5	chien neuf.
Ajax.........	5 5	ayant reçu eau distillée.
Achille........	5.5	ayant reçu sérum artificiel.
Socrate.......	5.5	ayant reçu déjà 2 injections antérieures.
Pélée.........	5.5	mélange avec le sérum d'Aristophane.
Protée........	5.5	mélange avec le sérum de Socrate.
Diogène......	4.7	
Aristophane...	1.0	ayant reçu une injection depuis 36 jours.
Phidias.......	0.7	ayant reçu une injection depuis 18 jours.

Tous ces chiens ont survécu, sauf *Diogène*. *Phidias* a été extrêmement malade, presque mourant; mais il a survécu.

Diogène, quoique ayant reçu seulement 4.7, dose absolument insuffisante pour déterminer la mort chez un chien normal, est tout de suite extrêmement malade, dès le début de l'injection. Il vomit à 1. A 4, il est sur le flanc, respire mal, a de la dyspnée, ne peut plus se tenir sur ses pattes. Il meurt le surlendemain matin (40 heures de survie).

En somme, cette dose de 4.7 a été plus toxique que n'eût été une dose double, comme en témoigne l'histoire des chiens *Hippias*, *Timon*, *Aristide*, qui, ayant reçu 9, 9.6 et 9.3, ont survécu plus longtemps que *Diogène*.

Ainsi cette expérience à elle seule suffit pour prouver que le sérum des chiens anaphylactisés (sérum de *Phidias*) contient des substances qui produisent les phénomènes anaphylactiques.

Malheureusement d'autres expériences n'ont pas été confirmatives de celle-ci.

	Jours d'intervalle.	Dose.	Sort.
Phociona.......	2	7.5	Survit.
Miltiade.......	4	5.0	—
Protée.........	4	5.5	—
Cléon..........	5	5.0	—
Marsyas.......	5	4.5	—
Cratès.........	19	5.3	—
Orphée........	13	5.5	—
Pélée...... .. .	14	5.6	—
Chloé....... .	15	5.0	—
Thraséas......	17	5.0	—
Polybe........	17	5.0	—

On peut expliquer ces échecs pour diverses raisons faciles à comprendre.

Phociona a reçu du sérum de *Marsyas*. Or *Marsyas* avait été lui-même, avant de recevoir de la mytilo-congestine, injecté avec du sérum de *Pausanias*, de sorte que les conditions ne sont pas les mêmes.

Miltiade a reçu du sang d'*Ajax*, protégé par une injection antérieure d'eau.

Protée a reçu du sang de *Socrate*, protégé par 3 injections successives de mytiline. *Cléon* a reçu du sang de *Chrysippe*, lequel avait reçu de la mytiline mélangée à du sérum normal.

Quant aux autres chiens, *Cratès*, *Orphée*, etc., l'injection de mytilo-congestine leur a été faite trop longtemps après l'injection de sérum anaphylactique pour qu'on en puisse rien conclure; car il est vraisemblable que les substances anaphylactisantes du sérum anaphylactique disparaissent vite, et qu'au bout de 10 à 15 jours l'organisme les a éliminées.

Aussi l'expérience faite sur *Diogène* demeure-t-elle dans toute sa force, établissant nettement que le sérum des chiens anaphylactisés contient, sinon toujours, au moins quelquefois, les substances anaphylactisantes. C'est là un fait dont l'importance au point de vue de la théorie de l'anaphylaxie est considérable.

VI

EFFETS DU MÉLANGE DE MYTILO-CONGESTINE *in vitro* AVEC LE SÉRUM ANAPHYLACTIQUE

Puisque l'injection de sérum anaphylactique est efficace pour produire l'anaphylaxie, on pouvait se demander si le mélange *in vitro* de sérum anaphylactisé avec la mytilo-congestine n'aurait pas des effets analogues.

J'ai fait cette expérience sur trois chiens, et, quoique le résultat ne soit pas décisif, il me paraît que la toxicité de la mytilo-congestine a été accrue par le mélange avec le sérum anaphylactique.

Solon reçoit le 2 mars 5.3 ; le 26 mars on injecte un mélange de 50 c. c. de son sérum (2 heures après la prise de sang) avec 50 c. c. d'une solution de mytilo-congestine (à 6^{gr},6 par litre)

à *Nicias*, soit 4.7 de mytilo-congestine par kil. *Nicias* n'est pas très malade immédiatement; toutefois il vomit à 0.7. Une demi-heure après l'injection, les phénomènes s'aggravent; il est très abattu, avec diarrhée, ténesme rectal et sang dans les fèces. Il survit. Son poids a baissé du 26 mars au 9 avril de 7^k,6 à 7^k,2.

Achille reçoit le 16 mars 5.6. Le 28 mars on injecte 58 c. c. de son sérum à *Apelle*, en le mélangeant avec la mytilo-congestine.

Apelle est tout de suite assez malade, vomit à 0.6. A 2, il est très abattu, dans un état presque comateux. Quand *Apelle* a reçu 4.5, de mytilo-congestine, on le détache pour l'observer. Il est très malade, titube, peut à peine se tenir sur ses pattes, a de la diarrhée, de la défécation, une respiration difficile. Le contraste est saisissant entre son état grave, et l'état d'*Antisthène*, qui reçoit le même jour 6.5 de mytilo-congestine mélangée à du sérum normal et n'est presque pas malade. Néanmoins *Apelle* survit, et son poids ne baisse pas beaucoup. Du 28 mars au 23 avril, de 10^k,4 à 10^k,3.

Pélée reçoit le 16 mars 5.6. Le 2 avril on mélange son sérum à la mytilo-congestine, et on l'injecte à *Diomeda*, à la dose de 5. *Diomeda* n'est pas malade, ne vomit pas et survit.

Ainsi, il semble bien que ce mélange *in vitro* du sérum des chiens anaphylactisés avec la mytilo-congestine accroît l'activité toxique de cette substance. Mais le fait exigerait confirmation.

VII

EFFETS DE LA SECONDE INJECTION SUR LES CHIENS AYANT REÇU DU SÉRUM, OU UN MÉLANGE DE SÉRUM ET DE MYTILO-CONGESTINE

Sur plusieurs de ces différents chiens une seconde injection a été faite, et elle a donné les résultats suivants :

	Jours d'intervalle.	1re dose.	2e dose.	Sort de l'animal.	1re + 2e doses.
Niciàs........	14	4.7	4.5	Mort en 10 h.	9.2
Protée........	19	5.5	8.0	—	13.5
Achille.......	17	5.6	3.3	Survit.	8.9
Ajax..........	19	5.5	3.8	—	9.3
Philippe......	21	7.1	5.5	Mort en 2 h.	12.6
Miltiade......	22	5.0	3.4	— 20 h.	8.4
Pélée.........	30	5.6	3.0	Survit.	8.6
Apelle........	43	4.5	4.0	—	8.5
Ulysse........	43	7.0	5.0	—	12.0

Antisthène…	43	6.5	4.0	—	10.5
Diomeda…..	43	7.0	5.5	—	12.5
Cratès……..	45	5.3	4.0	—	.3
Chrysippe….	50	4.6	5.0	—	9.6

Il semble bien résulter de ces faits, ainsi que les expériences indiquées plus haut, relatives à l'injection de mytilo-congestine en solution aqueuse, pouvaient le faire prévoir, que vers le quarantième jour l'anaphylaxie a à peu près disparu.

Il est assez intéressant de constater aussi que la seconde injection, si elle ne détermine pas immédiatement la mort, ne paraît pas affecter gravement la santé de l'animal, au moins si l'on en juge par la marche des poids. Nous pouvions prévoir le fait d'après les expériences sur *Socrate*, *Aristophane* et *Lysimaque*, mentionnées plus haut. Mais ici les résultats sont très nets.

	Dose de mytiline.	Jours d'intervalle entre la 1re et la 2e injection.	Le poids étant 100 au moment de a seconde injection a été au 10e jour :	au 20 jour :
Achille…………………	3.3	17		100
Ajax…………………	3.8	19		83
Aristophane………………	1.4	26	99	100
Pélée…………………	3.0	30	104	103
Pausanias………………	2.5	32	80	96
Lysimaque………………	6.2	36	100	100
Antisthène………………	4.0	43	102	107
Apelle…………………	4.0	43	102	102
Diomeda………………	5.5	43	103	—
Ulysse…………………	5.0	43	100	—
Cratès…………………	4.0	45		98
Chrysippe………………	5.0	50	100	—
Socrate…………………	11.4	58	99	104

Si l'on fait la moyenne de ces poids, on voit que sur 13 chiens, la moyenne au 10e jour est de 99 et au 20e jour, de 99.5, ce qui signifie en réalité qu'il n'y a pas eu de changement de poids.

Ainsi, quand un chien reçoit pour la première fois de la mytilo-congestine, son poids baisse énormément, tandis que, s'il en reçoit une seconde fois, de deux choses l'une : ou il meurt en quelques heures, ou, après quelques heures de maladie, il se remet et ne paraît pas être affecté dans sa nutrition et sa santé.

VIII

CONCLUSIONS

De tous ces faits résultent quelques conclusions générales

que je n'ai pu développer dans l'exposé des expériences; car la complexité est vraiment trop grande, et il y a trop d'enchevêtrement des phénomènes, pour qu'une théorie puisse être présentée avant que toutes les expériences aient été décrites.

1° Il y a pour les êtres vivants deux sortes de poisons : les uns tuent immédiatement, ou très rapidement, comme le chloroforme en paralysant le cœur, la strychnine en convulsant les muscles respiratoires, le curare en paralysant les terminaisons musculaires, le mercure en abolissant l'activité des cellules nerveuses, l'oxyde de carbone en minéralisant les hématies. Les autres poisons tuent à longue distance, en plusieurs jours, parfois en plusieurs semaines, par un mécanisme qui semble différent, encore que toutes les transitions s'observent. Immédiatement ils ne sont pas toxiques; mais ils provoquent dans l'organisme la formation de substances toxiques, de sorte qu'après l'injection du poison, une véritable maladie évolue.

Ou plutôt la maladie, c'est-à-dire l'ensemble des phénomènes morbides qui résulte d'une infection microbienne, est une intoxication lente, *doublement lente*, d'abord parce que le poison produit par le microbe est lentement et progressivement secrété, au fur et à mesure que le microbe prolifère, et ensuite parce que ce poison lui même agit lentement. De sorte que par l'injection de ces substances d'origine microbienne, comme le premier exemple en a été donné pour le poison de la diphtérie, l'intoxication offre tous les symptômes d'une maladie microbienne qui évolue.

Donc, en étudiant la marche de l'intoxication par ces sortes de substances, on étudie en somme l'évolution des maladies, c'est-à-dire la réaction de l'organisme à des poisons lents.

Or, j'ai pu trouver ces poisons lents dans des organismes normaux. En effet, j'ai pu extraire des actinies d'abord, puis des subérites, puis des moules, des substances chimiques qui ont ce caractère de pouvoir développer un état morbide spécial, et d'évoluer comme une maladie. Si on les injecte dans le système veineux d'un chien ou d'un lapin, elles tuent en quatre ou cinq jours, à dose forte; à dose même cinq fois plus faible elles déterminent une affection chronique, qui dure vingt ou trente jours au moins. Le contraste est saisissant entre ces poisons chroniques et les autres poisons cristalloïdes; car, si nous prenons la

strychnine par exemple, une dose de strychnine, qui est le cinquième de la dose mortelle, ne détermine que des effets à peine appréciables, et nulle maladie consécutive. Au contraire le cinquième d'une dose toxique de mytilo-congestine détermine une maladie assez grave, d'une trentaine de jours;

2° Cette maladie consécutive développe un état de sensibilité de l'organisme, que j'ai le premier décrit, et que j'ai appelé *anaphylaxie*, tel que, pendant un certain temps, l'organisme est plus sensible à l'action du poison qu'il n'était primitivement. Avec la mytilo-congestine, la sensibilité est dans la plupart des cas rendue cinq fois plus grande; dans quelques cas rares, la sensibilité est vingt-cinq fois plus grande.

J'ai pensé que cette anaphylaxie pouvait être due à la présence d'une substance *toxogénique*, non toxique par elle-même, mais donnant un poison par réaction sur la mytilo-congestine, et l'expérience a confirmé cette hypothèse. Même *in vitro* le mélange de mytilo-congestine avec le sérum des animaux anaphylactisés est plus toxique que la mytilo-congestine en solution aqueuse; et les accidents se développent immédiatement. Le sérum d'un chien anaphylactisé, injecté à un chien normal, a produit chez ce dernier l'anaphylaxie. Donc, l'anaphylaxie est due à la présence d'une substance (*toxogénine*) qui par réaction avec la mytilo-congestine développe un poison qui agit immédiatement.

En effet, le caractère de l'état anaphylactique est que tout de suite l'animal injecté devient malade.

Il y a vomissement immédiat et violent, alors que, chez les chiens normaux, souvent il n'y a pas vomissement, ou vomissement à de très fortes doses. Titubation, paresthésie, état comateux, les accidents nerveux apparaissent tout de suite, tandis que chez les chiens normaux, immédiatement après l'injection d'une énorme dose, qui sera mortelle, l'animal paraît à peine malade au premier, et parfois au deuxième jour[1].

Ainsi il est nécessaire d'admettre qu'une première injection de poison a provoqué l'organisme à former non une toxine, ni une antitoxine, mais une *toxogénine*, et que cette toxogénine

1. On serait parfois tenté de penser que ces poisons sont en eux-mêmes innocents, et qu'ils agissent seulement en provoquant la formation de substances toxiques, délétères, dans l'organisme. L'anaphylaxie aurait pour effet de rendre cette production toxique très rapide.

circule dans le sang (encore que peut-être, comme certaines expériences inachevées me le font présumer, cette toxogénine se trouve surtout localisée dans le système nerveux). Quoi qu'il en soit, elle existe dans le sérum, et c'est à la présence de cette toxogénine que sont dus les rapides accidents consécutifs immédiatement à l'injection d'une seconde dose de mytilo-congestine.

Cette toxogénine ne se forme pas immédiatement. J'ai constaté en effet que pendant les cinq ou six premiers jours l'anaphylaxie ne s'est pas encore établie.

Elle disparaît au bout d'une quarantaine de jours, de sorte que l'anaphylaxie après le 40e jour n'existe plus;

3° Non seulement l'anaphylaxie n'existe plus, mais il y a un état de prophylaxie.

Passé le 40e ou le 50e jour, les animaux sont devenus (relativement) immunes. On peut leur injecter de fortes doses sans les rendre malades. Ils ne vomissent plus ou ne vomissent qu'à des doses fortes; ils sont, en un mot, devenus plus résistants que des chiens normaux.

On peut même constater ce fait paradoxal et d'apparence contradictoire, que, même pendant la période anaphylactique, il a y un certain degré d'immunité. Aussi bien faut-il distinguer les effets immédiats et les effets lointains. Il y a anaphylaxie éclatante pour les effets immédiats; alors qu'il y a déjà un commencement de prophylaxie pour les effets lointains. Si l'animal après l'injection de la seconde dose échappe aux effets immédiats, il n'est plus malade les jours suivants.

Quelle que soit l'hypothèse qu'on adopte pour expliquer l'immunité ainsi acquise par une première injection, si l'on reste sur le terrain des faits, on est forcé de dire que l'*anaphylaxie est la première étape de la prophylaxie*.

Je proposerais volontiers le graphique suivant, très schématique, bien entendu :

Soit la dose toxique minimale 1 représentée par la droite AN; les jours sont indiqués à la ligne des abscisses, et les doses à la ligne des ordonnées. Chez l'animal normal, la dose toxique sera toujours égale à 1; mais, chez l'animal anaphylactisé, cette dose minimale sera beaucoup plus faible au 10e, ou 20e jour. Vers le 30e elle commence à se relever, et enfin la dose mini-

male au 50[e] et au 60[e] jour sera beaucoup plus forte. Il y aura prophylaxie, et cette prophylaxie aura été précédée par une période d'anaphylaxie ;

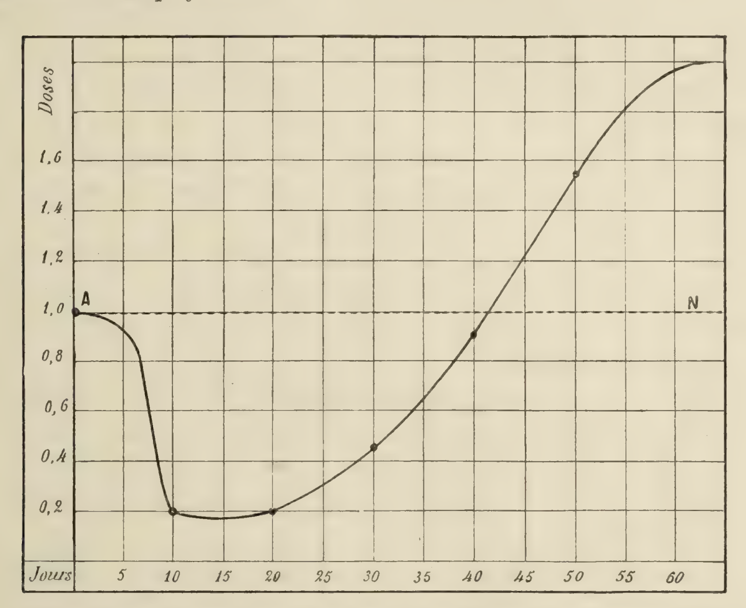


Schéma des périodes d'anaphylaxie et de prophylaxie (mytilo-congestine).

4° On peut formuler en deux propositions simples ces données un peu compliquées [1].

α. A l'injection d'une substance toxique de l'ordre des toxalbumines, l'animal réagit en fabriquant des sensibilisatrices ou *toxogénines*, ce qui crée l'état d'anaphylaxie.

. En même temps que cette toxogénine, mais avec une grande lenteur, l'organisme fabrique une antitoxine. Or, comme la toxogénine disparaît en cinq ou six semaines, tandis que l'antitoxine persiste, la période d'anaphylaxie précède la période de prophylaxie.

Au point de vue téléologique, qui doit toujours servir de fil conducteur dans toute doctrine biologique, on voit quelle adaptation admirable existe, dans les organismes vivants, contre

1. Evidemment je ne prétends pas que ces lois soient générales. Mais il me paraît probable, étant données toutes les expériences faites sur les divers sérums, qu'elles comportent une assez grande généralité.

les toxalbumines secrétées par les microbes. L'anaphylaxie *hâte la réaction de l'organisme contre les poisons microbiens.* En effet, comme l'organisme devient de plus en plus sensible aux actions microbiennes, il s'ensuit que la formation des substances antitoxiques est de plus en plus active.

L'anaphylaxie nous paraît donc, en dernière analyse, être un procédé de *défense rapide*, et surtout de *défense contre les faibles doses.* Elle permet aux êtres vivants de réagir vigoureusement à de faibles doses du poison sécrété par les microbes, et par conséquent de se défendre avec énergie, alors que l'attaque n'est pas énergique encore. C'est l'éveil donné aux cellules organiques par de petites quantités de poison, quantités qui, sans l'anaphylaxie, eussent été insuffisantes pour provoquer l'immunité.

Autrement dit encore : l'*immunité a pu s'établir*, *parce qu'il y a eu anaphylaxie.*

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
Vaccination des Bovidés contre la tuberculose
PAR LES VOIES DIGESTIVES

Par

A. CALMETTE et C. GUÉRIN

(Institut Pasteur de Lille.)

Dans notre troisième mémoire sur l'*origine intestinale de la tuberculose pulmonaire et sur le mécanisme de l'infection tuberculeuse* [1], nous avons indiqué que, lorsqu'on fait ingérer une seule fois à de jeunes bovins, à l'aide de la sonde œsophagienne, une petite quantité de bacilles tuberculeux virulents très finement divisés, la plupart de ces animaux réagissent à la tuberculine pendant 1 à 2 mois, quelquefois davantage, puis cessent de réagir et paraissent dès lors non seulement *guéris*, mais *vaccinés*.

Nous avons montré, par contre, que lorsqu'on soumet d'autres jeunes bovins, non plus *à une seule*, mais à *plusieurs réinfections successives, répétées à courts intervalles*, les lésions s'aggravent, évoluent rapidement vers la caséification et *ne guérissent jamais*.

La constatation de ces faits nous a déterminés à entreprendre, sur d'autres bovidés jeunes et adultes, de nouvelles expériences en vue de rechercher :

1° Au bout de combien de temps, après une infection artificielle et *unique*, par les voies digestives, l'immunité se manifeste;

2° S'il est possible de conférer l'immunité par les voies digestives en faisant absorber aux bovins jeunes ou adultes, en un seul ou en deux repas convenablement espacés, des bacilles tuberculeux atténués par la chaleur ou par diverses substances chimiques (iode, hypochlorite de soude), ou bien des bacilles tuberculeux adaptés à d'autres espèces animales que le bœuf;

1. Ces *Annales*, août 1906, p. 623.

3° Pendant combien de temps les animaux vaccinés par ces diverses méthodes gardent leur immunité;

4° Enfin, si ces animaux *vaccinés* résistent à l'épreuve d'infection par cohabitation prolongée avec des animaux tuberculeux, et s'ils résistent à l'épreuve d'infection par voie intraveineuse.

Nous nous proposons d'exposer surtout dans le présent mémoire les résultats de celles de ces expériences qui se rapportent à la vaccination par ingestion de bacilles *vivants*, parce que ce sont les seules qui remontent à une époque assez lointaine pour que nous puissions en tirer quelques conclusions.

***

Le 26 avril 1906, 8 jeunes bovins âgés de 7 à 10 mois, dont 6 de race flamande et 2 de race hollandaise, tous préalablement éprouvés à la tuberculine et reconnus indemnes, sont divisés en 2 lots :

2, formant le premier lot, ingèrent à la sonde œsophagienne, de cinq en cinq jours, quatre doses successives, de $0^{gr},05$ chacune, de bacilles virulents d'origine bovine, provenant d'une même culture sur pomme de terre glycérinée âgée de 5 à 7 semaines.

Les 6 autres (2e lot) reçoivent *une seule fois* la même dose ($0^{gr},05$) de la même culture.

Tous sont maintenus à l'étable, isolés et à l'abri de toute contamination.

16 jours après le quatrième repas infectant, les 2 veaux du premier lot réagissent à la tuberculine (1°,3, 1°,8). Eprouvés un mois, trois mois et cinq mois plus tard, ils réagissent toujours (1°,3, 1°,4 à la fin du cinquième mois). On décide de les abattre à la fin du sixième mois. Leur autopsie montre des lésions tuberculeuses disséminées dans toute la chaîne des ganglions mésentériques. Ceux-ci sont considérablement augmentés de volume. Les tubercules à centre caséeux sont accumulés surtout dans la zone corticale. Quelques ganglions portent des tubercules durs paraissant en voie de calcification.

Des 6 veaux du second lot, isolés comme les précédents, un seul a réagi (1°,5) à la tuberculine, à la première épreuve, 30 jours après l'*unique ingestion virulente* de $0^{gr},05$. Au bout du deuxième et du troisième mois, la réaction fut négative pour tous.

On pouvait supposer que les 5 animaux de ce second lot qui, du premier au troisième mois, sont restés indemnes, n'avaient pas été infectés. Pour nous en assurer, nous décidâmes de leur faire ingérer de nouveau, à la sonde, le 10 juillet 1906, soit 75 jours après leur premier repas, une dose double de bacilles bovins virulents (0gr,10), en même temps qu'à un troisième lot de 9 autres jeunes bovins du même âge qui devaient servir de témoins. Ces derniers comprenaient 6 veaux de race flamande et 3 de race bretonne.

Un mois plus tard, le 9 août, 5 témoins réagissaient (1°,2 à 2°,2), dont 4 flamands et 1 breton.

Aucun des 6 anciens n'a présenté de réaction.

A la fin du 2e mois, 4 témoins seulement réagissaient encore (1 flamand et 1 breton de 1°,8, 1 flamand de 2°,1 et 1 flamand qui, à la première épreuve, avait réagi de 1°,8, n'a fourni qu'une réaction douteuse de 1°).

Les 6 anciens restaient toujours indemnes.

Après trois mois (11 octobre 1906), l'épreuve à la tuberculine resta négative pour les 15 bovins.

On peut donc conclure de cette expérience qu'une seule infection de 0gr,05 de bacilles virulents, finement émulsionnés, ntroduits à la sonde œsophagienne dans le tube digestif des jeunes bovins, suffit à leur conférer une immunité assez solide pour leur permettre de supporter, 75 jours après, l'ingestion d'une dose double de virus (0gr,10).

Depuis le 11 octobre 1906 jusqu'au 1er juillet 1907 (8 mois 1/2), 12 de ces bovins (5 du 2e lot et 7 du 3e) sont soumis à l'épreuve d'infection par cohabitation libre avec 10 témoins et 6 malades atteints de lésions ouvertes. Aucun de ces 12 bovins ne réagit encore à la tuberculine, tandis que 5 des témoins réagissaient déjà le 10 mai 1907.

Bien que 5 veaux sur les 9 du 3e lot aient été nettement tuberculisés pendant deux mois, à la suite de l'unique repas infectant de 0gr,10 de bacilles bovins, ces 5 animaux ont donc *guéri* et se comportent encore à l'heure actuelle (après 11 mois) *comme s'ils étaient vaccinés.*

***

Dans une nouvelle série d'expériences, nous avons fait ingérer à la sonde, à la date du 31 octobre 1906, 0gr,25 de

bacilles virulents, finement émulsionnés, à trois animaux réservés et supposés vaccinés, l'un du 2e lot, les deux autres du 3e lot précédents, en même temps qu'à 4 témoins neufs (de race bretonne).

30 jours plus tard, deux de ces derniers réagissaient (2° et 1°,8) à la tuberculine.

Après 60 jours, les deux autres témoins réagissaient à leur tour (1°,6 et 1°,5); mais l'un de ceux qui avaient réagi au trentième jour de 2°, ne réagissait plus. Le quatrième donnait 1°,5.

A la fin du troisième mois, un seul témoin, le quatrième, avait, à l'épreuve, une température maxima de 1°,1.

Les trois autres cessaient de réagir.

A aucun moment les trois animaux supposés vaccinés n'ont présenté de réaction. Ils n'en présentent toujours pas à l'heure actuelle, après 8 mois, et avec des doses doubles de tuberculine; les 4 témoins restent également indemnes; on doit donc les considérer, eux aussi, comme *guéris* et *vaccinés*. Nous les conservons pour les éprouver plus tard soit par cohabitation, soit par injection intraveineuse.

Tous ces résultats montrent que, quelle que soit la dose de virus ingérée *en un seul repas infectant* de 0^{gr},05 à 0^{gr},25, les jeunes bovins âgés de 7 à 10 mois *guérissent toujours, dans le délai maximum de trois mois*, des lésions tuberculeuses qu'ils ont pu contracter à la suite *d'une seule infection artificielle* par les voies digestives.

Lorsque leurs lésions sont *guéries* et qu'ils ne réagissent plus à la tuberculine, ils sont *vaccinés* et conservent l'immunité pendant au moins 8 mois, peut-être davantage.

***

Parallèlement aux essais qui précèdent, il nous a paru nécessaire de rechercher comment se comportent les bovins *adultes* à l'égard de l'infection tuberculeuse par les voies digestives et s'il est possible de les vacciner par cette même voie, soit avec des bacilles virulents, soit avec des bacilles diversement modifiés.

Une série de 7 vaches, toutes âgées de plus de 3 ans, nous a servi pour ces expériences que nous résumons ci-après :

N° 1. *Flamande.* — Ingère, le 26 décembre 1905, à la *sonde*,

0 gr,10 de bacilles bovins chauffés 5 minutes à 100°. Le 12 février 1906, nouvelle ingestion de 0 gr,50 de bacilles bovins chauffés 5 minutes à 100°.

Le 10 juin 1906, n'ayant jamais réagi à la tuberculine, cette vache ingère, toujours à la sonde, 0 gr,25 de tuberculose virulente finement émulsionnée dans 1 litre de décoction de graine de lin à 15 p. 1,000.

Le 8 août, elle réagit de 2°, 1 ; le 10 septembre elle ne réagit plus. Le 6 novembre, on lui fait absorber, suivant la même technique, 1 gramme de bacilles bovins virulents.

Le 6 décembre et le 7 janvier 1907, pas de réaction à la tuberculine.

Tuberculinée tous les trois mois depuis lors, elle reste indemne.

N° 2. *Flamande.* — Ingère, le 26 décembre 1905, à la sonde, 0 gr,10 de bacilles bovins chauffés 10 minutes à 70°.

Le 12 février 1906, nouvelle ingestion de 0 gr,50 de bacilles bovins chauffés 10 minutes à 70°.

Le 10 juin 1906, n'ayant jamais réagi à la tuberculine, cette vache ingère, toujours à la sonde, 0 gr,25 de tuberculose virulente émulsionnée dans un litre de décoction de graine de lin.

Éprouvée le 9 juillet, le 8 août et le 10 septembre à la tuberculine, elle ne réagit pas.

Le 6 novembre on lui fait absorber, suivant la même technique, 1 gramme de bacilles bovins virulents.

Éprouvée le 6 décembre, le 7 janvier 1907, puis tous les trois mois depuis lors, elle ne présente aucune réaction.

N° 3. *Flamande.* — Ingère une première fois, le 27 mars 1906, 0 gr, 10 de culture fraîche de tuberculose d'*origine équine*, fournie par le *Dr Borrel*, puis une seconde fois, le 11 mai, 0 gr, 50 de la même culture fraîche, non chauffée.

Le 10 juillet, n'ayant pas réagi à la tuberculine, on lui fait absorber 0 gr,25 de tuberculose bovine virulente.

Éprouvée les 8 août et 10 septembre, elle n'accuse aucune réaction.

Le 6 novembre, elle absorbe 1 gramme de bacilles bovins virulents.

Tuberculinée les 6 décembre, 7 janvier 1907 et tous les trois mois depuis lors, elle reste indemne.

N° 4. *Normande.* — Ingère, le 29 mars 1906, 0 gr, 25 de bacilles bovins virulents, non chauffés.

Réagit de 1°, 1 le 2 juin, puis cesse de réagir.

Ingère, le 6 novembre, 1 gramme de bacilles bovins virulents.

Éprouvée les 6 décembre, 7 janvier 1907 et tous les trois mois par la suite, elle ne réagit jamais.

N° 5. *Flamande.* — Ingère, le 29 mars 1906, 0 gr, 25 de bacilles bovins virulents, non chauffés.

Réagit de 1° le 30 avril, puis cesse de réagir.

Ingère, le 6 novembre, 1 gramme de bacilles bovins virulents.

Éprouvée les 6 décembre, 7 janvier 1907 et tous les trois mois par la suite, elle ne réagit jamais.

N° 6. *Flamande.* — Ingère, le 29 mars 1906, 0 gr, 25 de bacilles bovins virulents, non chauffés.

Réagit de 1°,8 le 2 juin, puis cesse de réagir.

Ingère, le 6 novembre, 1 gramme de bacilles bovins virulents.

Éprouvée les 6 décembre, 7 janvier 1907 et tous les trois mois depuis lors, elle n'a jamais fourni de réaction.

N° 7. *Flamande.* — A ingéré, le 15 mars 1906, une première dose de 0,10 de bacilles bovins virulents, non chauffés, puis, n'ayant pas réagi à la tuberculine, une seconde dose de 0 gr, 20 des mêmes bacilles virulents le 10 mai.

Ne réagissant toujours pas, on lui fait absorber 0 gr, 50 de bacilles virulents le 30 juin et encore 1 gramme des mêmes bacilles le 6 novembre.

Éprouvée le 6 décembre, elle ne fournit aucun réaction.

Désireux de savoir si cette vache a pu se débarrasser aussi rapidement des bacilles tuberculeux qu'elle a absorbés à la dose énorme de 1 gr, 80 en 8 mois, et dont un bon nombre ont dû être retenus par ses ganglions mésentériques, nous décidons de l'abattre le 12 décembre, soit 36 jours après le repas infectant de 1 gramme, qui laisse indemne toutes ses compagnes vaccinées.

Voici les résultats de son autopsie :

Aucune lésion tuberculeuse des viscères de la cavité abdominale. Ganglions mésentériques d'aspect et de volume normaux. Poumons et autres organes thoraciques sains. On ne trouve aucune trace de tubercules anciens ou récents.

Des fragments de ganglions mésentériques, des ganglions du foie, de la rate, du médiastin postérieur, des ganglions bronchiques et rétropharyngiens, sont excisés avec des instruments stériles, triturés séparément et inoculés chacun sous la peau de la cuisse à 4 cobayes.

62 jours après ces inoculations, un seul de ces 28 cobayes, inoculé avec le triturat des ganglions mésentériques, présente une adénite inguinale. Sacrifié le 76ᵉ jour, il est trouvé porteur de tubercules du foie et de la rate. L'examen microscopique de ces organes et celui du ganglion suppuré confirment le diagnostic.

D'autre part, des fragments de ganglions mésentériques ont été inclus dans la paraffine aux fins d'examen histologique. Sur les coupes il n'a pas été possible de déceler des bacilles colorables. Par contre, on observe, principalement dans la couche corticale, des petits amas de tissu fibreux dense qui paraissent manifestement être les reliquats d'anciennes cicatrices de tubercules.

Il ressort nettement de ces expériences que les bovins adultes, comme les bovins jeunes, sont susceptibles de guérir en quelques mois d'une infection tuberculeuse artificielle restée *unique*, et qu'ainsi *guéris* ils acquièrent vis-à-vis d'une ou plusieurs autres infections, même massives, une réelle *immunité*.

Elles montrent, en outre, que, ainsi que nous l'avions déjà indiqué pour les veaux [1], l'ingestion de bacilles tuberculeux *chauffés à* 70° ou celle de bacilles vivants d'*origine équine*, répétée deux fois à 45 jours d'intervalle environ, confère aux bovidés adultes une résistance telle qu'ils ne réagissent plus à la tuberculine après qu'on leur a fait absorber des doses de bacilles virulents sûrement capables de provoquer cette réaction, chez les témoins, dans le délai d'un à deux mois.

*
* *

Plusieurs conclusions d'ordre pratique nous paraissent dès à présent pouvoir se dégager des faits qui précèdent :

Chez les *bovidés*, *jeunes* ou *adultes*, — (et il en est probablement ainsi dans l'espèce humaine) — la gravité des infections

1. *C. r. Acad. des sciences,* 11 juin 1906.

tuberculeuses dépend du *nombre des microbes absorbés*, de l'*adaptation* de ceux-ci à l'organisme infecté (autrement dit de leur *virulence*) et de la *fréquence des contaminations;*

Une seule infection, même relativement massive, *peut guérir;* la guérison définitive est manifestée par l'absence de réaction à la tuberculine; et toute infection *guérie* confère à l'organisme une résistance marquée à l'égard de nouvelles infections.

Il est impossible de fixer actuellement la *durée* de cette immunité. Nous pouvons seulement dire qu'elle persiste chez les jeunes bovins éprouvés depuis huit mois.

La *cohabitation libre et continue* des animaux vaccinés avec des animaux porteurs de lésions tuberculeuses ouvertes pourra seule nous fournir à ce sujet des données précises.

Nous poursuivons nos expériences dans cette voie.

DU ROLE DES HELMINTHES,

DES LARVES D'HELMINTHES

Et des larves d'Insectes dans la transmission des microbes pathogènes

Par M. WEINBERG

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

(*Suite et fin.*)

Sclérostome du cheval. — Parmi les animaux d'abattoir, le cheval est un des plus favorables pour l'étude de la transmission des microbes par les helminthes, et cela pour deux raisons : 1° son intestin renferme presque toujours beaucoup de vers intestinaux ; 2° cet intestin ne présentant pas de valeur comestible, les bouchers ne font en général aucune difficulté pour vous laisser étudier et même emporter toutes les pièces que vous jugez intéressantes pour vos recherches.

Parmi les nématodes qu'on trouve le plus souvent chez cet animal, il faut surtout citer le sclérostome, l'ascaride et le ténia. Le sclérostome est d'une telle fréquence qu'on peut dire sans exagération que presque tous les chevaux en sont infestés. Lorsqu'on examine avec soin le cæcum et le colon replié, on trouve presque toujours un ou plusieurs exemplaires de ce nématode, et cela aussi bien en hiver qu'en été.

La figure 6 montre la disposition la plus fréquente de ces parasites sur la muqueuse cæcale. Comme à l'abattoir on peut étudier l'intestin immédiatement après l'abattage du cheval, il est facile de constater que la plupart de ces parasites sont fixés. Quelquefois, on trouve ces nématodes accouplés et fixés en même temps sur la muqueuse cæcale (c, c', c'', c''').

Le sclérostome se fixe solidement sur la muqueuse intestinale, perfore le capillaire sanguin et suce le sang. Lorsqu'on examine les parasites qui viennent de se détacher, on les trouve colorés en rouge noir, tellement leur canal intestinal est gorgé de sang.



Fig. 6.

Portion du cœcum du cheval montrant un nombre considérable de scléros-tomes fixés sur la muqueuse.

a, sclérostome libre.

b, *b'*, *b''*, sclérostomes fixés.

c. sclérostomes accouplés dont le mâle est fixé sur la muqueuse.

c', *c''*, *c'''*, sclérostomes accouplés; dans chaque couple, la femelle est fixée.

c'''', slérostomes accouplés; tous les deux sont fixés sur la muqueuse cœcale.

d, *d'*, petites ulcérations hémorragiques que laissent les sclérostomes déta-chés de la muqueuse.

La muqueuse du cæcum et celle du colon replié sont parsemées de petites ulcérations rougeâtres ; ce sont les morsures des sclérostomes détachés. On peut trouver au niveau de ces morsures de gros caillots sanguins, mais le fait est rare.

La cicatrisation de la morsure dépend de la virulence des microbes inoculés par le sclérostome. Lorsque ces microbes sont inoffensifs, la plaie se referme rapidement et on ne trouve plus trace de la piqûre des helminthes. Lorsque ces microbes sont pathogènes, il se forme à la place de la morsure une petite ulcération au niveau de laquelle on peut trouver différentes bactéries. Cette constatation a déjà été faite par Faure et Marotel [1].

Ces auteurs ont trouvé une destruction parfois totale de l'épithélium dans la région où le parasite était fixé.

Ce fait est exact, nous avons pu maintes fois le confirmer.

Nous avons été à même d'étudier toutes les variétés des lésions provoquées par le sclérostome.

Les petites ulcérations peuvent s'étendre et former finalement des ulcérations que nous avons vu atteindre jusqu'à 23 millimètres sur 8. Quelquefois ces ulcérations sont tout à fait rondes, à bords très indurés ; la région centrale déprimée est couverte de sang ou d'un magma grisâtre. En général, on y trouve fixés plusieurs parasites. Les coupes histologiques montrent que la muqueuse et souvent la couche superficielle de la sous-muqueuse sont complètement détruites à ce niveau. La zone profonde de la sous-muqueuse présente une infiltration leucocytaire, dans laquelle on trouve de nombreux microbes.

Lorsque la sclérostomose est intense, on peut trouver, dans l'intervalle des ulcérations, un grand nombre de larves du parasite saillant sous la muqueuse cæcale.

Quelquefois, les lésions produites par le sclérostome prennent une forme toute spéciale :

Au lieu d'une petite piqûre hémoragique ou d'une ulcération on trouve, au point de fixation de l'helminthe, une petite tuméfaction œdémateuse dont les dimensions, en général, ne dépassent guère 15 millimètres de diamètre.

Ces petites tumeurs montrent une infiltration œdémateuse

1. *Société des sciences vétérinaires de Lyon*. Séance du 25 mai 1902, p. 142-148.

considérable de la muqueuse et de la sous-muqueuse. On y trouve rarement des microbes et l'infiltration leucocytaire est ordinairement insignifiante. Nous avons tout lieu de croire qu'il s'agit dans ce cas d'une infection par microbes anaérobies très toxiques.

Le fait que nous avons trouvé surtout ces cas chez les chevaux excessivement maigres, en déperdition considérable, est en faveur de cette hypothèse. Dans quelques-unes de nos observations, cette tuméfaction œdémateuse de la paroi cæcale au point de fixation des sclérostomes a pris des proportions considérables. Une de ces lésions mesurait 85 millimètres de long sur 33 de large.

Les parasites en question se fixent en général à une petite distance les uns des autres. Dans des cas exceptionnels, ils se groupent en amas et se fixent si près les uns des autres qu'ils forment, par leur réunion, une véritable colonie.

Un de ces cas est représenté sur la figure 7. Pour nous rendre compte si la muqueuse au niveau de la fixation de cette colonie vermineuse était très atteinte, nous avons détaché une partie de ces parasites. Nous avons pu ainsi constater qu'à ce niveau la plus grande partie de la muqueuse était complètement et profondément ulcérée. D'autre part, les vers étaient pour ainsi dire agglutinés par une masse d'un gris noir, dans laquelle on retrouvait des débris de matières alimentaires.

On voit que cette agglomération de parasites constitue une cause adjuvante à l'infection de la muqueuse intestinale au niveau de leur point de fixation. Les parasites, en même temps que les particules de matières fécales, retiennent entr'eux une riche flore microbienne dans laquelle peuvent se trouver des microbes pathogènes.

Les sclérostomes inoculant des microbes dans la paroi intestinale, il est possible que, dans certains cas, ils provoquent ainsi une septicémie mortelle du cheval.

Nous nous sommes demandé si le canal intestinal du sclérostome contenait une flore microbienne. En effet, si ces parasites contenaient des microbes dans leur tube digestif, ces derniers pourraient passer dans la paroi intestinale pendant la durée parfois très longue de la fixation du nématode.

Nous avons fait ces recherches en collaboration avec Mlle I.

Saeves. Voici comment nous avons procédé et les résultats que nous avons obtenus.

On choisit les plus gros sclérostomes qu'on trouve dans le cæcum et le còlon replié du cheval. Après avoir cautérisé au fer rouge la surface du

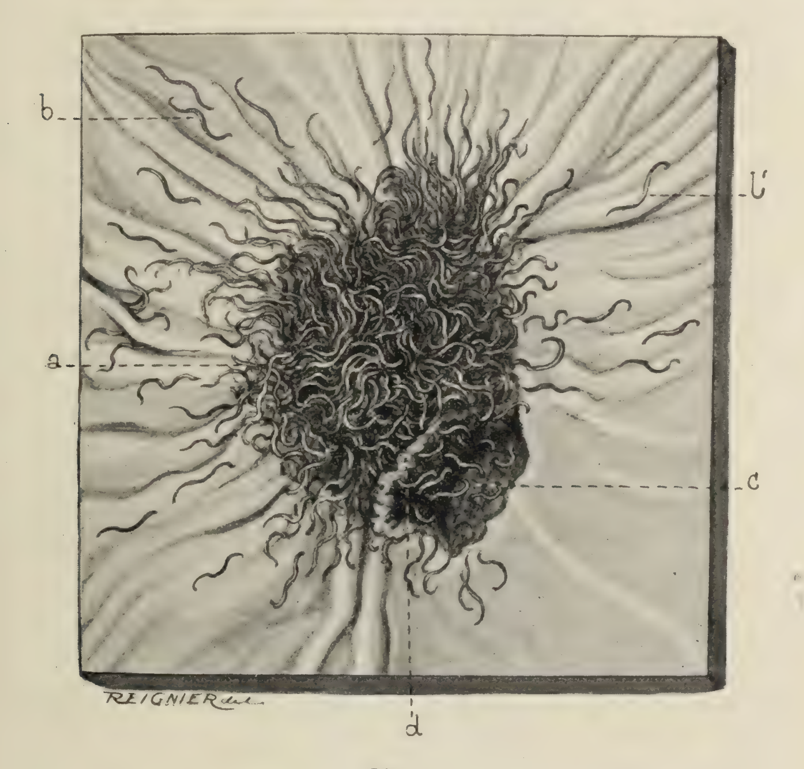


Fig. 7.

Un coin du cœcum du cheval montrant une véritable culture de sclérostomes fixés sur la muqueuse.

a, amas de parasites.

b, *b'*, parasites libres.

c, ulcération trouvée sous les parasites.

d, montre l'amas de parasites entre lesquels on trouve des parcelles de la muqueuse sphacélée relevée pour permettre de voir l'ulcération.

parasite, on introduit dans son corps l'extrémité d'une pipette effilée. Lorsque le sclérostome est distendu par le sang, il est très facile de passer dans son canal intestinal et d'en retirer assez de liquide pour faire un frottis ou un ensemencement.

Ire Expérience. — Examen bactériologique du contenu intestinal de 97 sclérostomes provenant de 25 chevaux différents. Nous n'avons trouvé de microbes que dans 33 cas sur 97. Les microbes sont le plus souvent isolés, parfois

groupés en petits amas. Ce sont : le colibacille, l'enterocoque et un diplobacille prenant le Gram.

IIe Expérience. — Le contenu intestinal de 25 sclérostomes est ensemencé dans autant de tubes de gélose, 14 tubes sont restés stériles, même au bout de 8 jours d'étuve; dans 5 tubes nous n'avons trouvé qu'une colonie microbienne par tube; les autres ensemencements ont donné de 5 à 17 colonies. Dans ces colonies on retrouve les mêmes microbes que nous avons déjà vus; de plus, un streptocoque et un staphylocoque donnant, au bout de 24 heures d'étuve, un pigment d'un rose foncé.

IIIe Expérience. — Ensemencement du liquide intestinal en milieu anaérobie. Sur 10 tubes de bouillon ensemencés, 7 sont restés stériles. Dans 3 autres tubes nous avons retrouvé le colibacille et le diplobacille, tous deux anaérobies facultatifs.

Depuis ces recherches, nous avons eu l'occasion d'examiner de nouveau le contenu intestinal d'un grand nombre de sclérostomes et nous pouvons conclure que leur tube digestif, bien qu'en général contenant beaucoup moins de microbes que celui de l'ascaride, renferme toujours une ou plusieurs espèces bactériennes.

On voit donc que le sclérostome est dangereux pour le cheval, non seulement par les microbes qu'il porte sur la surface de son corps, mais encore par ceux qui se trouvent dans son canal intestinal.

* * *

Cestodes. — La plupart des auteurs qui ont décrit chez l'homme les manifestations cliniques, parfois très graves, qui accompagnent la présence des ténias dans le tube digestif, admettent en général que tous les troubles qu'on observe dans ces cas (troubles digestifs, nerveux, respiratoires, cardiaques, etc.) proviennent de la résorption par l'organisme du malade des toxines sécrétées par les cestodes.

Sans nier la possibilité de la sécrétion d'une toxine par les helminthes, nous voulons chercher si, dans certains cas, ces parasites ne sont pas capables, eux aussi, de jouer un rôle dans la transmission des microbes pathogènes.

A ce propos nous devons rappeler ici l'observation que nous avons publiée dans notre note à la Société de Biologie[1] sur la fièvre typhoïde expérimentale.

Voulant rechercher si vraiment le trichocéphale joue un rôle important dans la transmission de la fièvre typhoïde, comme

1. *C. r. de la Soc. biologie*, 1906, p. 648.

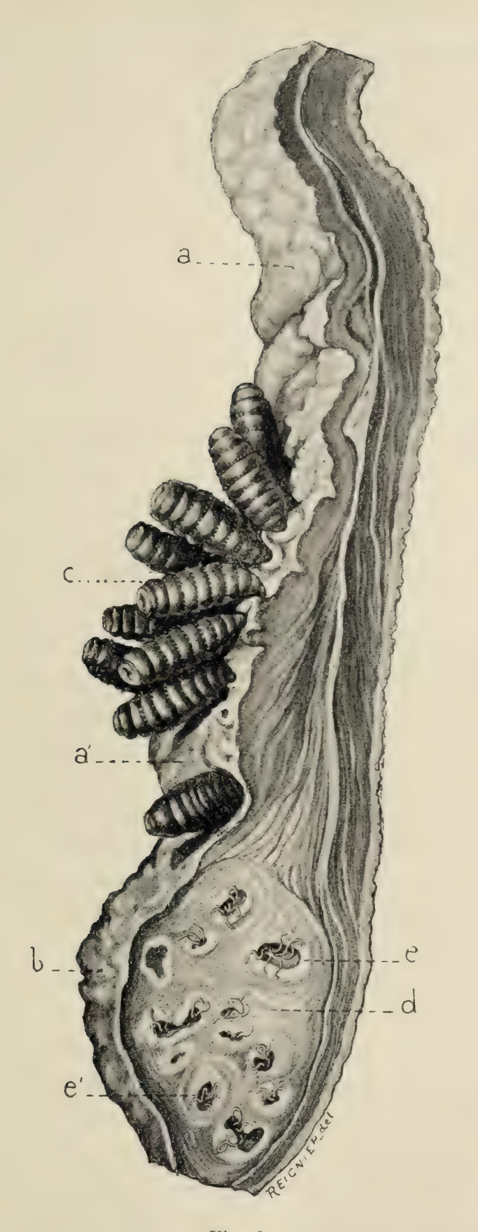


Fig. 8.

Estomac du cheval. — Sac gauche, *a*, *a'*, la muqueuse gastrique; *c*, larves de gastrophile fixées sur la muqueuse de l'estomac.

d, tumeur sous-muqueuse faisant saillie en *b* dans la cavité gastrique.

e, *é*, cavités dont cette tumeur inflammatoire est criblée, contenant des larves de spiroptères mégastomes nageant dans le pus.

le soutiennent Guiart[1] et un certain nombre de savants qui ont constaté la présence d'œufs de trichocéphales dans les matières fécales des typhiques, nous avons choisi deux singes (cynocéphales) qui convenaient très bien à cette expérience, car nous avions trouvé dans leurs fèces un nombre considérable d'œufs de trichocéphale; on en voyait plusieurs sur chaque préparation.

Ces singes ont reçu, au moyen d'une sonde œsophagienne, une émulsion dans du bouillon de trois cultures sur gélose de bacille typhique de vingt-quatre heures.

Un de ces singes est mort rapidement d'une septicémie à colibacilles.

Un autre a survécu trente-trois jours à l'ingestion répétée de bacilles typhiques. Pendant ce temps, sa température montait dans la soirée de 38°,9 à 39°,6. La courbe thermique n'a présenté rien de caractéristique.

L'animal est mort le 26 avril. A l'autopsie on trouva, au niveau de l'iléon, un nombre considérable d'ulcérations des plaques de Peyer présentant les caractères des lésions typhiques à différents stades de leur évolution. La portion terminale du duodénum et la portion initiale du jéjunum étaient obtrsuées par un amas de ténias dont quelques-uns étaient encore fixés, au moment de l'autopsie, au niveau des petites ulcérations. Le cæcum et une portion du colon montraient un grand nombre de trichocéphales.

La figure 8 laisse voir très bien et les ulcérations de l'intestin grêle, et le mode de fixation des trichocéphales sur la muqueuse du cæcum. On peut y constater que la muqueuse cæcale présentait également de toutes petites ulcérations; un trichocéphale est même fixé dans une de ces ulcérations. L'examen microscopique a prouvé que ces lésions ne sont pas typhiques.

D'autre part, la figure 10 montre la portion terminale du duodénum et la partie initiale du jéjunum dont nous avons mentionné plus haut l'obstruction par les ténias.

L'ensemencement du sang et de la rate a donné lieu à des cultures pures de bacille typhique. L'examen histologique des ulcérations intestinales a confirmé leur nature typhique. On trouve des amas considérables de ces bacilles dans les ulcéra-

1. *Bull. de l'Académie de médecine*, 11 octobre 1904.



Fig. 9.

A, représente la portion terminale de l'iléon et le cæcum d'un cynocéphale dont l'intestin grêle a été couvert de nombreuses ulcérations d'aspect typhique. En *a*, *a'* on voit deux grandes ulcérations qui arrivent jusqu'au bord même de la valvule de Bauhin.

Le cæcum montre une série de trichocéphales fixés sur sa muqueuse

En *e* on voit une petite ulcération à l'endroit où l'un de ces trichocéphales est fixé ; en *d*, une ulcération de la portion initiale du colon.

B. présente de larges ulcérations de la portion initiale de l'iléon.

En *b*, *b'*, plaques de Peyer à bords tuméfiés et à centre complètement ulcéré; *c*, une plaque de Peyer dont la moitié inférieure est tuméfiée et dont la moitié supérieure est déjà ulcérée.

tions de l'iléon ainsi que dans les petites ulcérations, aux points de fixation des ténias.

L'étude histo-bactériologique de ce cas nous a permis d'affirmer que nous avons reproduit chez le singe une véritable fièvre typhoïde. Cela est intéressant, car Grünbaum [1] n'a pu, malgré le résultat positif obtenu chez un macaque par Chantemesse et Ramond [2], donner la fièvre typhoïde intestinale aux singes inférieurs.

Soloukha a eu le même insuccès dans les recherches qu'il a faites au laboratoire de M. Metchnikoff il y a un an et demi.

Les expériences de Soloukha nous ont servi de témoins, car nous avons opéré dans les mêmes conditions et avec le bacille typhique de la même provenance.

Nous avons conclu que les ténias ont permis, chez notre second singe, la pénétration du bacille typhique dans la paroi intestinale. Cette hypothèse est confirmée par la présence de gros amas de bacilles typhiques aux points de fixation des ventouses des ténias.

Nous avons eu l'occasion d'étudier de plus près le mécanisme de la transmission des microbes par les cestodes. Cette occasion nous a été fournie par l'étude des lésions provoquées par les ténias, qu'on trouve si souvent dans le gros intestin, et surtout dans le cæcum du cheval.

Comme le montre la figure 10, ces parasites se fixent en nombre considérable sur la muqueuse intestinale. Il n'est pas rare d'en rencontrer plusieurs centaines dans le même cæcum. Nous avons exprès détaché un certain nombre d'entre eux pour permettre de voir les petites dépressions de la muqueuse et les petites ulcérations qu'on trouve au niveau de leurs points de fixation. On trouve également sur le même dessin, qui représente la région du cæcum voisine de la valvule iléo-cæcale, un polype moyen (*e*) et un gros polype (*e*). Ce dessin a été fait à l'abattoir même, immédiatement après l'abattage du cheval. En effet, les ténias se détachent très rapidement de la muqueuse intestinale.

Il arrive cependant, rarement il est vrai, que le ténia reste fixé sur la muqueuse. Cela se voit lorsque le parasite a pro-

1. *British medical Journal*, avril 1904.
2. *C. r. de la Société de Biologie*, 1897, p 713.



Fig. 19.

Ce dessin représente les trente premiers centimètres de l'intestin grêle du même cynocéphale.

A, montre que toute cette région, située immédiatement au-dessous de la saillie (*b*) que fait la tête du pancréas dans le duodénum, est complètement bourrée d'un grand nombre de ténias.

a', pylore.

B, même intestin débarrassé des ténias; on voit en *a*, *b*, *c* les ulcérations sur lesquelles étaient fixées les têtes des ténias.

voqué autour de lui la formation d'une ulcération assez profonde, dans laquelle il a engagé sa partie céphalique.

Nous avons pratiqué un grand nombre de coupes au niveau



Fig. 11.

Cœcum du cheval; région péri-valvulaire.

On voit un nombre considérable de ténias (*Tœnia perfoliata*) fixés sur la muqueuse intestinale, quelques-uns en amas (*b*), d'autres disséminés sur toute l'étendue du cœcum *a*, *a'*.

c, *c'*, petites dépressions de la muqueuse et ulcérations au niveau de la fixation de ces parasites. Les ténias ont été enlevés pour mieux faire ressortir les lésions produites par eux.

d, valvule iléo-cœcale, sur laquelle les ténias ont été fixés en grand nombre.

e, *e'*, polypes dont l'étude histologique a montré l'origine inflammatoire.

du point de fixation de ces cestodes, ce qui nous a permis de constater les faits suivants :

1° Le ténia, en se fixant sur la muqueuse intestinale, y provoque une congestion intense;

2° Il applique en même temps sur cet endroit de la muqueuse les microbes qui se trouvent sur ses ventouses. D'autre part, il emprisonne les microbes qui se trouvaient auparavant en ce point de la muqueuse;

3° Un nombre considérable de leucocytes arrivent à la surface de la muqueuse et englobent les microbes;

4° D'autres fois, les microbes pénètrent dans l'épaisseur de la muqueuse et y provoquent un processus inflammatoire qui peut aboutir à une de ces ulcérations qu'on trouve souvent au point de fixation des cestodes.

Nous avons cherché à nous mettre à l'abri de certaines causes d'erreur, en ne prenant pour l'étude que les pièces tout à fait fraîches dont nous venions de détacher les parasites.

On voit ainsi que les cestodes peuvent jouer, eux aussi, bien que par un mécanisme différent, un rôle important dans la transmission des microbes pathogènes.

L'observation de Guglielmi [1], qui a donné dans sa thèse une coupe histologique passant par le point d'implantation du *Dipylidium caninum* sur la muqueuse intestinale du chien restée intacte, n'infirme nullement nos constatations.

Il en est des cestodes comme des nématodes; ils sont capables de se fixer sur la muqueuse absolument saine. C'est justement pour cela que, lorsque nous voyons un foyer d'inflammation microbienne se former au niveau de leur point de fixation, nous avons le droit d'admettre que ce sont bien les helminthes en question qui ont favorisé la pénétration du microbe pathogène dans la paroi intestinale.



Larves d'Helminthes. — On sait que les embryons et les larves d'helminthes, grâce à leur grande mobilité et à leurs petites dimensions, traversent facilement la muqueuse intestinale, passent dans les vaisseaux lymphatiques et sanguins, puis de là

1. *Thèse de Lyon*, 1905.

dans les différents organes de l'animal. C'est ce qui arrive pour les embryons de *Trichina spiralis*, de *Linguatula rhinaria*, pour les larves de *Sclerostomum equinum*, pour celles des différentes espèces d'*œsophagostomum*, etc. Nous avons voulu nous rendre compte si les larves, elles aussi, sont capables de transporter des microbes dans les organes où elles pénètrent. L'étude de l'œsophagostomose des singes et la sclérostomose du cheval nous a permis d'élucider cette question.

Les larves du sclérostome se fixent surtout sur la tunique interne de l'aorte et des grosses artères, dans la sous-muqueuse du gros intestin et dans le tissu conjonctif sous-péritonéal de l'abdomen.

Nous ne consignerons ici que les résultats de l'étude bactériologique des kystes sous-muqueux et sous-péritonéaux.

a) *Kystes larvaires sous-muqueux du gros intestin*. — On choisit les kystes recouverts par la muqueuse absolument intacte comme celui qui est représenté sur la figure 12. Quelquefois, la larve produit autour d'elle un œdème assez considérable dans lequel il est difficile de reconnaître des microbes; d'autres fois, la larve baigne dans un liquide purulent où nous

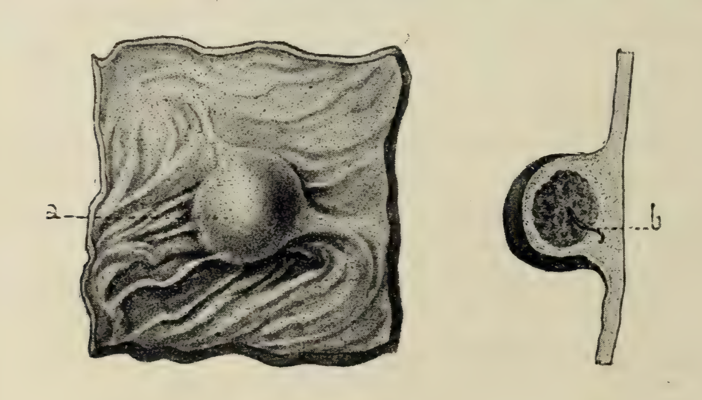


Fig. 12.

a, une petite tumeur sous-muqueuse faisant saillie dans la cavité du cœcum, on peut voir que la muqueuse est seulement tendue, mais reste intacte.

b, coupe transversale de cette petite tumeur; on voit qu'elle est formée par un foyer inflammatoire suppuré, au centre duquel se trouve une petite larve de sclérostome.

avons trouvé différents microbes (gros bacille prenant le Gram, bacille fin, diplocoque, etc.);

b) *Kystes larvaires sous-péritonéaux.* — Le contenu de 56 kystes, examiné sur frottis, a montré 13 fois des microbes, en général en très petit nombre. Nous avons ensemencé sur gélose et dans le bouillon le contenu intestinal de 23 kystes provenant de différents chevaux. Dans 10 cas, nous avons obtenu des cultures (streptocoque, gros bacille, bacille fin, diplocoque).

Dans une deuxième expérience nous avons ensemencé le contenu de 24 kystes provenant aussi de différents chevaux. Cette fois nous n'avons trouvé des microbes que dans 3 cas.

Le contenu d'un de ces kystes, ensemencé sur gélose, a donné lieu à la formation de 12 colonies microbiennes (bacille prenant le Gram et staphylocoque).

Pour la bonne conduite de ces expériences, il est nécessaire de prendre certaines précautions. C'est ainsi qu'il faut effectuer les prélèvements aussitôt après la division du thorax du cheval. Celle-ci est, en effet, suivie le plus ordinairement d'un essuyage avec un linge plus ou moins propre, dans le but d'enlever les taches qui peuvent se trouver sur la face interne de la région costale.

Nous avons décrit [1], chez le chimpanzé et les singes inférieurs, des kystes du gros intestin dont la formation est due à la pénétration des larves d'œsophagostome dans la sous-muqueuse.

L'étude histo-bactériologique d'un grand nombre de ces kystes larvaires sous-muqueux, provenant de 4 chimpanzés et 21 singes inférieurs, nous permet de les grouper en trois catégories : kystes nettement hémorragiques, kystes à contenu mixte, riches en leucocytes, kystes purulents.

Le plus grand nombre des kystes appartiennent à la catégorie hémorragique. Dans les kystes non suppurés, mais riches en leucocytes, on trouve surtout des mononucléaires, mais pas de microbes.

Les kystes suppurés doivent être divisés eux-mêmes en deux variétés. A la première variété appartiennent les kystes suppurés recouverts par la muqueuse absolument saine. Il est évident, dans ce cas, que la suppuration est due non pas au microbe venu du canal intestinal, mais bien au microbe apporté par la larve, ou bien encore au microbe qui se trouvait dans le

1. *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 3 mars 1906, p. 446.

sang épanché et qui a continué à se développer dans le foyer hémorragique.

Dans la deuxième variété, où la muqueuse est enflammée au niveau des kystes, la suppuration de ces derniers est due, dans certains cas, à la pénétration des microbes intestinaux à travers la paroi distendue.

Les kystes enflammés de cette façon peuvent amener une septicémie mortelle, ainsi que nous l'avons observé chez un chimpanzé.

Cet animal a présenté, à l'autopsie, quelques kystes sous-muqueux au niveau du gros intestin. Deux de ces kystes contenant chacun une grosse larve d'œsophagostome étaient suppurés. L'examen du pus a montré la présence d'un grand nombre de petites chaînettes de streptocoques. Tous les viscères de ce singe étaient intacts. L'ensemencement du sang (du cœur, du foie et de la rate) a donné des cultures pures de streptocoque.

Les faits que nous venons d'exposer nous permettent de conclure :

1° Les larves de nématodes, en traversant la muqueuse intestinale, se dépouillent pour la plupart, des microbes qu'elles portaient à leur surface.

Tantôt ces microbes sont englobés et détruits par les phagocytes de cette région, tantôt ils provoquent la formation de nodules inflammatoires, quelquefois même d'abcès;

2° Certaines larves réussissent à introduire les microbes dans le courant circulatoire, et même dans la sous-muqueuse et la couche sous-péritonéale, où elles peuvent s'enkyster d'une façon définitive;

3° La suppuration des kystes larvaires hémorragiques (quel que soit leur siège) peut être également due aux microbes introduits par le sang épanché;

4° Lorsque les kystes larvaires siègent au niveau du gros intestin, leur suppuration peut être aussi causée par des microbes du canal intestinal.

A propos des larves d'helminthes, nous devons mentionner que nous avons trouvé quelquefois, chez le chimpanzé, des larves du *Linguatula rhinaria* dans la couche sous-péritonéale de la paroi abdominale, ainsi que dans celle de l'estomac et de l'intestin grêle (fig. 13 et 14).

Ces larves sont logées dans la couche sous-séreuse d'où elles font saillie à la surface du péritoine sous forme de petits corps arqués. Elles sont entourées par une coque de tissu conjonctif.

Dans les cas que nous avons observés, la muqueuse intestinale, au voisinage de ces parasites enkystés, est indemne de lésions inflammatoires.

Ces cas sont intéressants, car on note rarement la présence de pentastomes (larves de *Linguatula rhinaria*) dans la paroi intestinale ; on ne les trouve généralement qu'au niveau du foie.

*
* *

Larves d'insectes. — On sait que les larves de différentes espèces d'œstres avalées par le cheval passent dans son tube

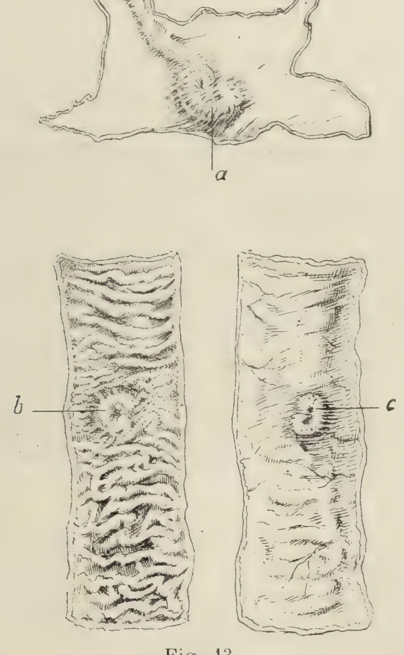


Fig. 13.

a, un lambeau de péritoine abdominal montrant un corps arqué saillant et représentant une larve de Pentastome (genre Porocéphale). (Chimpanzé. Dessin grandeur naturelle.)

b, intestin grêle montrant une larve de Pentastome faisant saillie du côté de a muqueuse.

c, même parasite vu sur la face péritonéale de l'organe.

digestif, s'y développent et se fixent tantôt sur la muqueuse du sac gauche de l'estomac, tantôt sur le duodénum, tantôt enfin sur la muqueuse anale.

Sachant le rôle important joué par les vers dans l'étiologie de certaines affections du tube digestif, nous nous sommes demandé si les lésions que l'on constate au point de fixation des larves ne seraient pas dues aux microbes que ces parasites introduisaient dans la paroi intestinale.

Les premières recherches que nous avons pu faire sur les pièces que MM. Railliet et Petit, professeurs à l'Ecole vétérinaire d'Alfort, ont mis obligeamment à notre disposition, ont été communiquées l'année dernière à la Société de Biologie. Depuis ce moment nous avons trouvé un nombre considérable d'estomacs renfermant des gastrophiles chez les chevaux, à l'abattoir de Vaugirard. Nous avons pu confirmer et compléter nos premières constatations.

Ces lésions ont été peu étudiées. Un des travaux les plus complets sur ce sujet est celui de Guyot[1], qui est arrivé à la



Fig. 14.
Coupe histologique.
Estomac de Chimpanzé. — On voit en *a, a'* une larve de Pentastome coupée en deux endroits et logée dans la sous-séreuse; *b*, parasite entouré par une mince coque fibreuse. Les autres couches de la paroi gastrique ne présentent rien d'anormal.

conclusion que les lésions en question relèvent « d'une réaction inflammatoire banale, analogue à celle qui se produit autour d'un corps étranger ». Nous allons tout à l'heure donner les

1. J. Guyot, Contribution à l'étude des larves de gastrophiles. *Archives de Parasitologie*, 1901, p. 169-221.

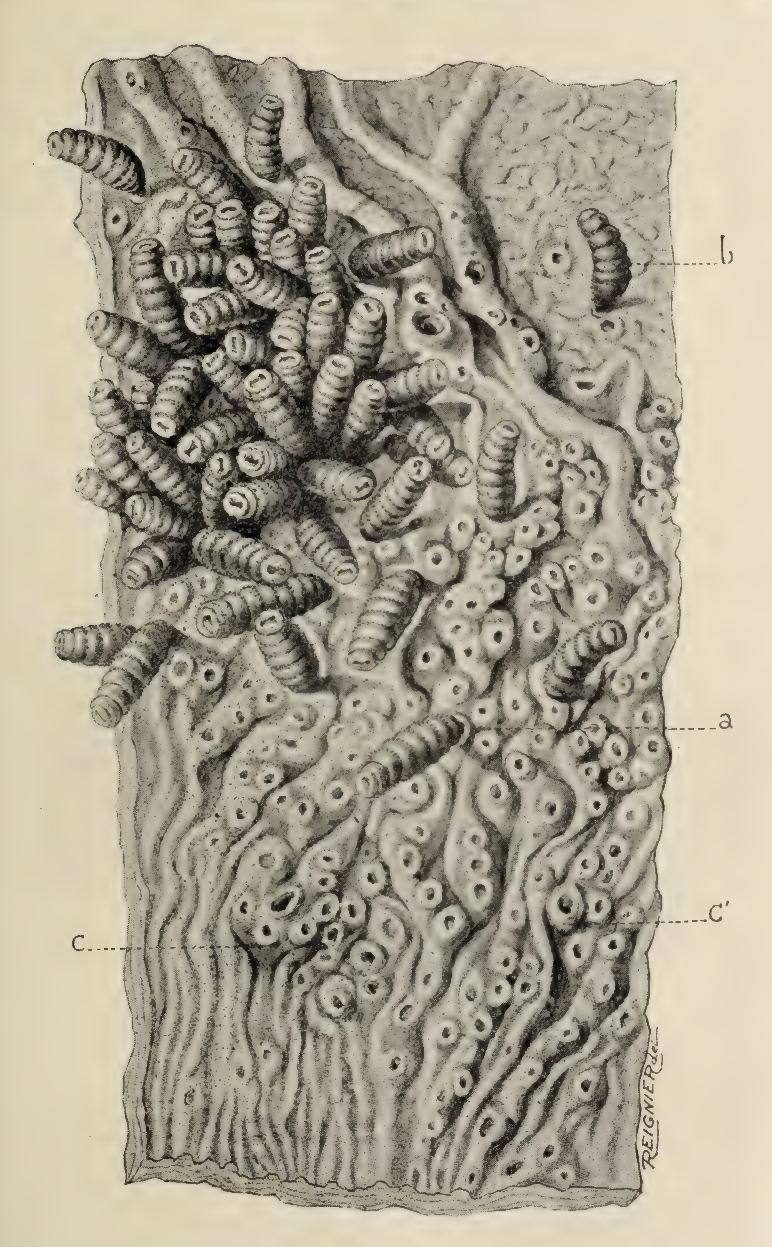


Fig. 15.

Estomac du cheval montrant des larves d'Oestres fixées sur sa muqueuse.
a, larve de *Gastrophilus equi* fixée sur la muqueuse du sac gauche de l'estomac.
b, une larve fixée sur la muqueuse du sac gauche.
(Ce dessin est fait d'après une pièce de M. G. Petit.)

raisons pour lesquelles nous ne pouvons partager entièrement cette façon de voir.

Voici le résumé des lésions constatées dans les pièces étudiées par nous.

L'aspect macroscopique de ces lésions est connu. Nous pouvons cependant ajouter qu'on peut trouver, dans le sac gauche de l'estomac, à côté des ulcérations en cupule très caractéristiques, des nodules blanchâtres, présentant parfois une tache jaune centrale; ces nodules sont durs au toucher. Ils représentent les cicatrices d'anciennes ulcérations.

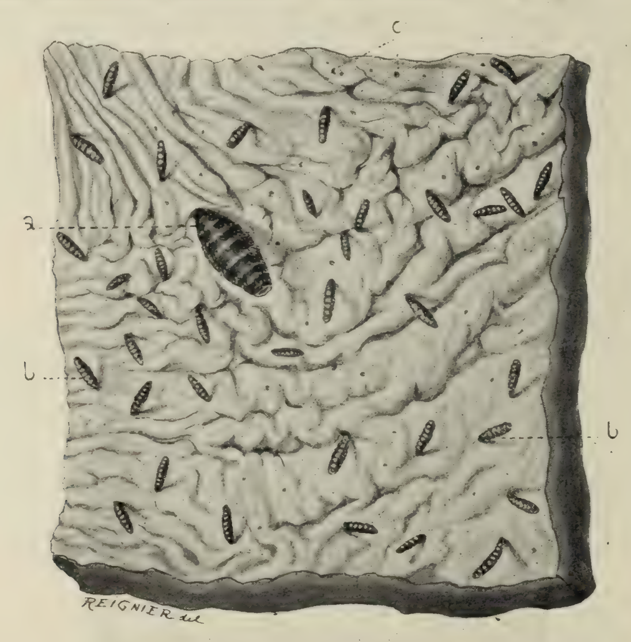


Fig. 16.

Estomac du cheval. — *b*, *b'*, petites larves de gastrophile fixées sur la muqueuse gastrique; au milieu d'un grand nombre de ces petites larves on ne voit qu'une seule larve adulte en *a*.

c, *c'*, petites ulcérations dues aux larves.

Lorsqu'un certain nombre des larves en question se fixent sur la portion initiale du sac gauche de l'estomac, immédiatement au-dessous du rebord de la muqueuse à épithélium pavimenteux, cette muqueuse, soulevée par les parasites du voisinage, peut s'hypertrophier au point de montrer une véritable production papillomateuse.

La figure 15 présente très fidèlement les lésions qu'on trouve d'ordinaire dans l'estomac de cheval contenant des larves d'insectes.

Parfois on ne trouve que de très petites larves (fig. 16). Dans ce cas, les ulcérations sont beaucoup plus petites. Dans certains cas nous avons constaté de vastes lésions dont le point de départ était une petite ulcération de la muqueuse gastrique produite par une larve.

Ces ulcérations peuvent atteindre 10-15 centimètres de longueur sur 1 à 3 centimètres de largeur. Elles se trouvent surtout vers la limite de la cavité gauche de l'estomac.

La figure 17 montre une partie d'une vaste ulcération de ce

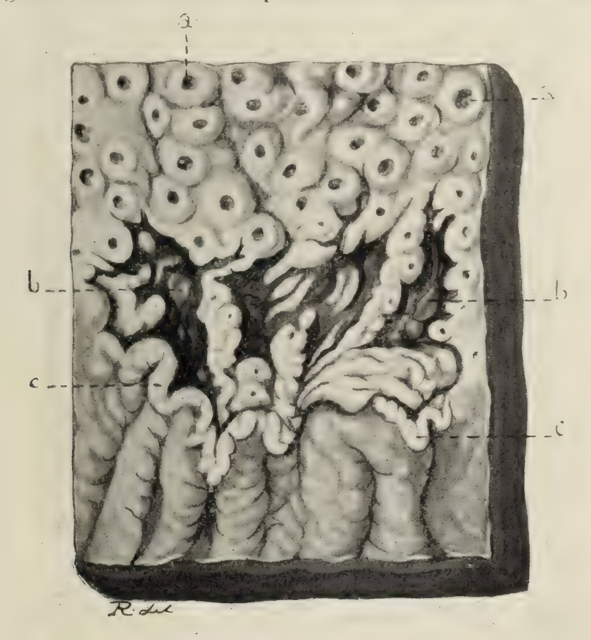


Fig. 17.

Estomac du cheval. — Lésions produites par les larves d'Oestres.

a, *a'*, ulcérations causées par les larves, *b*, *b'*, vastes ulcérations de la région terminale du sac gauche ayant comme point de départ les petites ulcérations dues aux larves d'Oestres.

c, *c'*, bord saillant de la muqueuse du sac droit.

genre. Nous avons enlevé toutes les larves qui étaient fixées à ce niveau, pour faire mieux ressortir les caractères de cet ulcère.

Il ne faut pas confondre ces ulcères avec les pseudo-ulcères

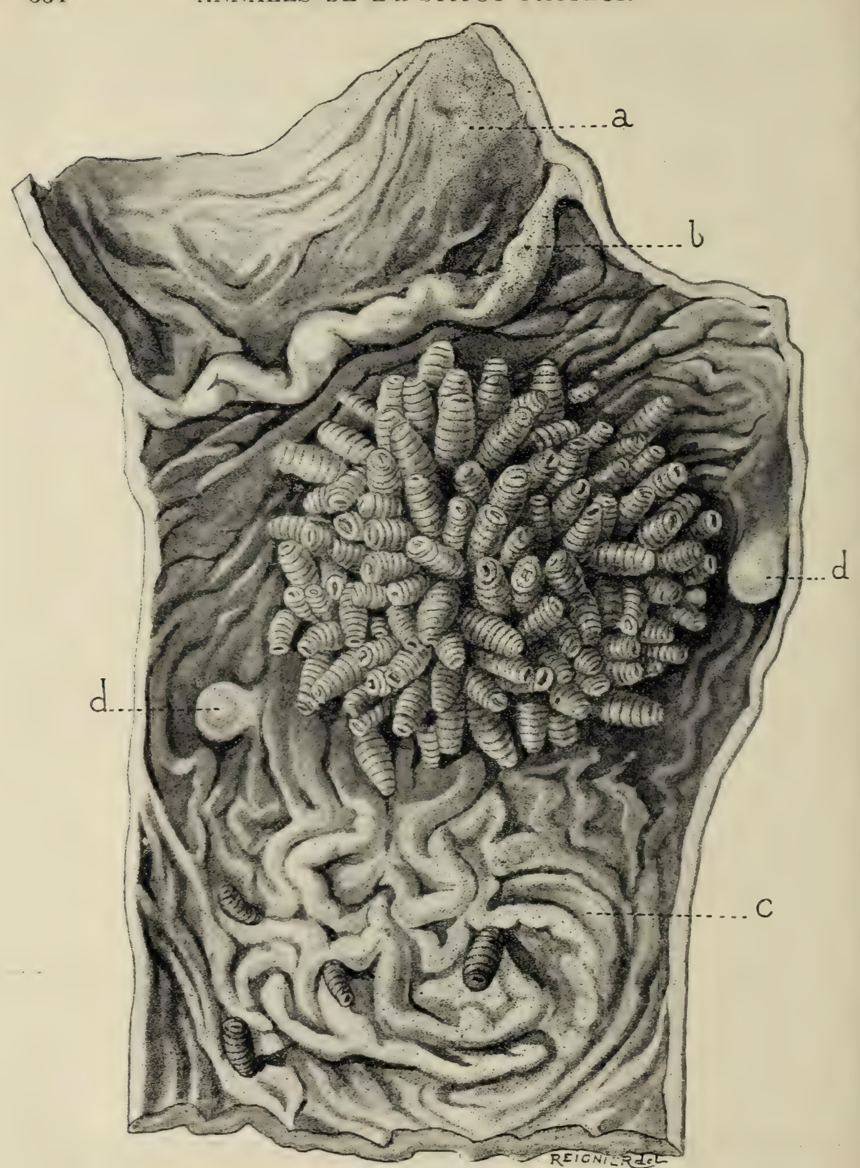


Fig. 18.

Cette figure montre la portion initiale du duodénum de cheval.

a, région pylorique de l'estomac.

b, pylore.

c, duodénum.

d, *d'*, deux polypes muqueux de chaque côté d'un amas considérable de larves d'Oestres fixées sur la muqueuse duodénale.

On voit en outre d'autres larves disseminées plus bas sur la muqueuse du duodénum.

qu'on trouve parfois dans l'estomac du cheval tout près aussi de l'origine du sac droit. Ceux-ci présentent une coloration grisâtre.

Les coupes histologiques montrent qu'il s'agit ici tout simplement d'un amincissement et d'une dépression du revêtement pavimenteux.

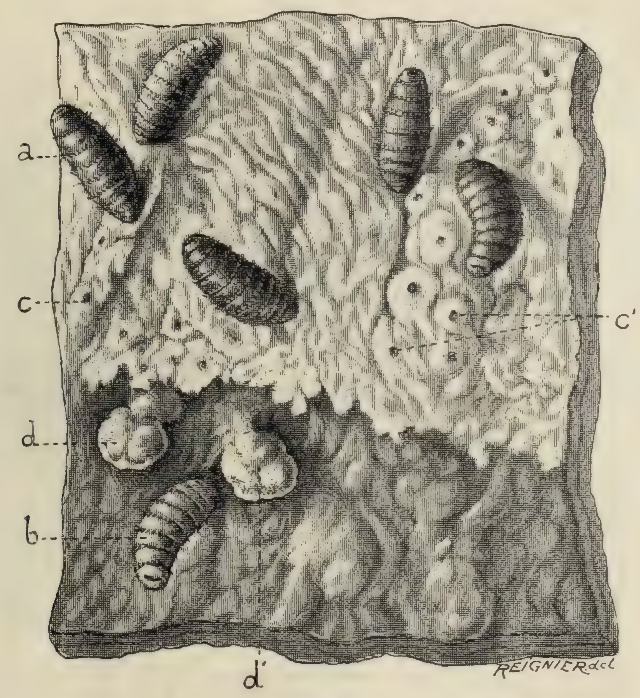


Fig. 19.

Estomac de cheval. — Région comprenant à la fois le sac droit et le sac gauche.

En *a*, larve de gastrophile fixée sur la muqueuse du sac droit.

b, larve fixée sur la muqueuse du sac gauche.

c, *c'*, ulcérations.

d, *d'*, polypes muqueux de la région initiale du sac gauche.

Dans deux cas, nous avons constaté au milieu des larves la présence de véritables polypes (la figure 19 montre un de ces cas).

Un cas semblable a été observé par nous dans la première partie du duodénum où nous avons trouvé un grand nombre de larves d'œstres, en partie groupées en amas, en partie disséminées sur la muqueuse intestinale à ce niveau (fig. 18).

On peut trouver des ulcérations dues à la piqûre de larves d'œstres dans le sac droit, mais ces cas sont beaucoup plus rares.

Lésions histologiques, — 1° Quelquefois on trouve des lésions banales, telles qu'elles sont décrites par Guyot et qui ne sont

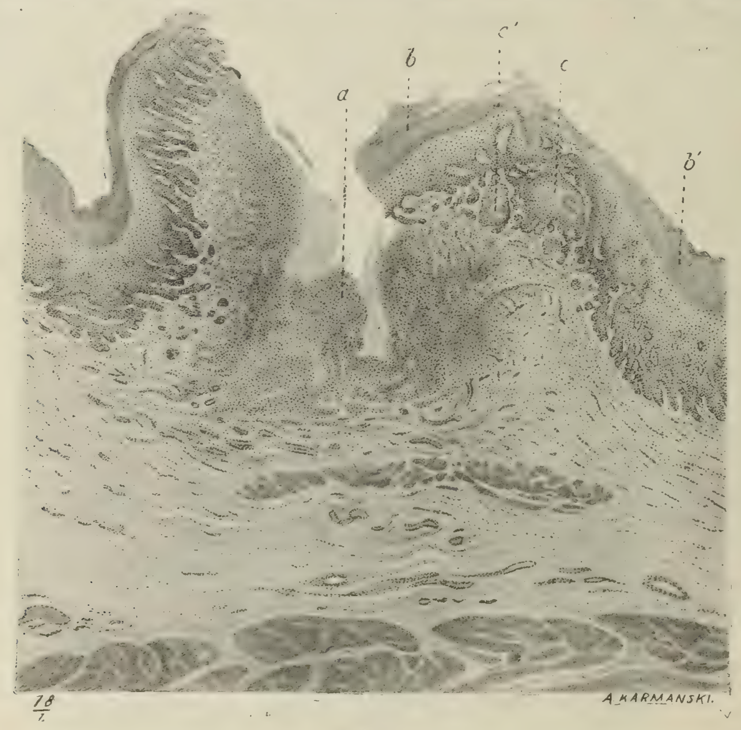


Fig. 20.

Coupe de la paroi du sac droit de l'estomac passant par une ulcération causée par une larve de gastrophile.

a, foyer inflammatoire à cheval sur le chorion et la sous-muqueuse autour de la tête de la larve.

b, *b'* montre une hypertrophie de la couche cornée de la muqueuse à épithélium pavimenteux.

c, *c'*, globes épidermiques dans les bourgeons que la muqueuse envoie dans le chorion.

dues qu'à l'irritation du chorion par la tête du parasite; et cela qu'il s'agisse des lésions de l'estomac ou bien de celles du duodénum;

2° Dans d'autres cas, la partie céphalique de la larve crée autour d'elle une inflammation microbienne aiguë, que l'on constate facilement sur des coupes colorées au Gram ou à la thionine;

3° Lorsque l'inflammation provoquée par la larve est subaiguë ou chronique, on peut constater dans la sous-muqueuse l'endartérite ou l'endomésartérite des petites artères. Ces lésions ne peuvent pas être produites par un corps étranger ; elles sont la conséquence d'une infection (fig. 21).

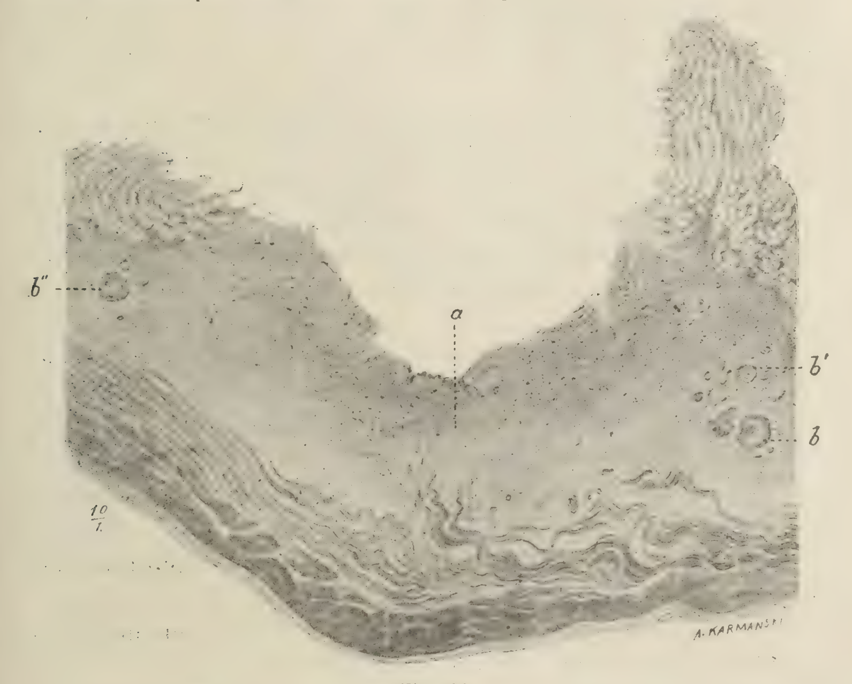


Fig. 21.

Duodénum du cheval. Coupe passant par une ulcération produite par la larve.

a, zone inflammatoire bordant l'ulcération en voie de cicatrisation.

b, b', b''. On voit des artères atteintes d'endartérite oblitérante et montrant une lumière très rétrécie.

4° Il faut également noter une lésion importante que l'on constate quelquefois sur les bords des ulcérations du sac gauche de l'estomac. Il s'agit d'une véritable leucoplasie qui se présente avec tous ses caractères, y compris les globes épidermiques qu'on trouve dans les bourgeons épithéliaux qui s'enfoncent dans le derme (fig. 20).

Il est donc évident que si la larve de gastrophile détermine parfois, au point de fixation, une réaction banale aseptique, elle peut aussi agir comme un corps étranger septique et donner lieu

à une inflammation aiguë ou subaiguë par les microbes qu'elle introduit dans l'épaisseur de la paroi intestinale. En un mot, le rôle des larves des gastrophiles est comparable à celui des helminthes capables de se fixer sur la muqueuse du tube digestif.

Il est bien possible que certains cas de septicémie, chez le cheval, soient occasionnés par les microbes virulents inoculés par les larves en question.

Depuis notre note à la Société de biologie, M. Ries a émis l'hypothèse que les gastrophiles jouent un rôle dans la propagation de l'anémie pernicieuse à caractère endémique.

Au mois d'août dernier, au moment de la recrudescence de l'anémie, ce savant a constaté que tous les chevaux anémiques observés par lui présentaient dans les poils de leurs genoux des coques vides.

Dans une écurie, il a trouvé d'innombrables œufs dans les poils de deux chevaux anémiques; deux autres chevaux de valeur, bien soignés, indemnes d'anémie, ne présentaient pas d'œufs de gastrophiles dans leurs poils.

Malheureusement comme on le voit, l'auteur n'apporte pas d'arguments péremptoires en faveur de sa thèse.

Les larves d'œstres provoquent souvent la suppuration des sinus frontaux chez le mouton.

On est parfois obligé de trépaner les sinus et même d'amputer les cornes pour enlever ces larves.

Les larves d'insectes sont aussi accusées de provoquer des troubles sérieux chez l'homme, mais ce sont surtout les habitants des régions tropicales qui souffrent de ces parasites.

En effet, il n'est pas rare de rencontrer, aux Indes, des indigènes présentant des suppurations nasales provoquées par la présence de larves de mouches.

M. Surveyor, professeur à la Faculté de médecine de Bombay, nous écrit avoir observé de nombreux cas d'infections nasales par ces larves.

Dans un cas, le nez a été littéralement obstrué par ces parasites. Dans d'autres cas, ces larves étaient fixées sur les organes génitaux externes d'une femme et y avaient provoqué la formation d'ulcérations.

Dans nos climats tempérés, il est rare de rencontrer chez

l'homme des cas d'infections intestinale ou autre, dans l'étiologie desquelles on pourrait incriminer l'action des larves d'insectes.

Voici une observation que notre collègue, M. Cohendy, a faite il y a 5 ans à l'hôpital Necker.

« Une femme de 35 ans environ est atteinte d'entérite mucomembraneuse subaiguë, caractérisée par des diarrhées fréquentes, du ballonnement du ventre et une grande sensibilité de la fosse iliaque droite. Ces phénomènes disparaissent pendant 2 à 3 semaines après une première crise de 7 jours. Puis survient une seconde crise durant laquelle on remarque que la malade rejette, avec des fausses membranes striées de sang, des paquets assez volumineux de petits grains allongés, de la grosseur d'un grain de riz, de couleur brun noir, agglomérés entre eux.

« Un examen minutieux permet d'établir qu'il s'agit de larves de mouches, dont l'espèce n'a pas été établie.

« Pendant 3 mois consécutifs, tout traitement anthelmintique ayant échoué, la malade est reprise de crises semblables toujours accompagnées de l'expulsion des mêmes larves qui avaient passé inaperçues la première fois. »

Conclusions.

Nous avons vu, au cours de ce travail, qu'on ne possède jusqu'à présent qu'un nombre relativement restreint de données précises sur le rôle des helminthes dans l'étiologie des maladies infectieuses. Cela tient à ce que la plupart de ces parasites se détachent rapidement de la paroi intestinale après la mort de leur hôte. C'est pour cela aussi qu'on a été plus heureux en ce qui concerne l'étiologie vermineuse de l'appendicite. En effet, en examinant un appendice immédiatement après la résection, on a beaucoup plus de chances de surprendre le parasite sur le fait et d'étudier d'une façon précise son action sur la muqueuse.

Ce sont les autopsies de singes faites très rapidement après la mort et les pièces que nous avons recueillies aux abattoirs qui nous ont donné les renseignements les plus précis.

Bien que l'étude de la transmission des microbes pathogènes

par les helminthes ne soit encore qu'à son début et qu'il faille encore beaucoup de données nouvelles pour préciser le mode d'action de chaque ver intestinal et les conditions favorables à son intervention, les faits que nous avons exposés plus haut nous permettent cependant de formuler cette conclusion générale que *la plupart des helminthes favorisent la pénétration des microbes dans la paroi intestinale.*

Cette pénétration s'effectue d'après un mécanisme qui diffère suivant l'espèce parasitaire qui la cause. Ainsi, certains nématodes, comme le trichocéphale, l'oxyure, le sclérostome, le physaloptère et le spiroptère, qui sont capables de se fixer sur la paroi intestinale, inoculent directement les microbes qui se trouvent sur la surface de leur corps.

D'autres, comme l'ascaride, bien qu'incapables de se fixer sur la muqueuse intestinale (du moins leur fixation sur la muqueuse saine n'est pas encore établie d'une façon indiscutable), peuvent favoriser l'infection en mordant légèrement la muqueuse, en provoquant ainsi de petits foyers congestifs au niveau desquels peuvent secondairement se former des foyers inflammatoires et même des ulcérations.

Les cestodes sont aussi capables de provoquer des lésions de la muqueuse intestinale, mais leur mode d'action est tout différent. Ces parasites ne transpercent pas la muqueuse ; mais, en y appliquant leurs ventouses, ils provoquent une congestion locale très intense et, en même temps qu'ils déposent au point de leur fixation les microbes qui se trouvent à la surface de leurs ventouses, ils en emprisonnent d'autres qui existaient auparavant en ce point de la muqueuse. Il s'ensuit dans cette région une affluence considérable de leucocytes qui s'efforcent de lutter contre l'invasion microbienne. Mais, dans certains cas, les microbes pénètrent dans l'épaisseur de la muqueuse et y provoquent un processus inflammatoire qui peut aboutir à la formation de véritables ulcérations.

Nous avons pu établir que les helminthes pourvus d'un tube digestif sont non seulement couverts de microbes à la surface de leur corps, mais possèdent encore une véritable flore microbienne intestinale. Ils présentent donc un double danger pour leur hôte, lorsqu'ils restent longtemps fixés sur la muqueuse.

Les larves d'helminthes, en pénétrant en grand nombre dans la paroi intestinale et de là dans le courant circulatoire, y amènent des microbes et sont le point de départ d'abcès sous-muqueux, d'aortites et de nodules inflammatoires sous-péritonéaux.

Les larves d'insectes, et en particulier celles de différentes espèces d'œstres, favorisent la formation de lésions ulcéreuses et suppurées aussi bien chez les animaux que chez l'homme. Leur mode d'action est le même que celui des helminthes. En se fixant sur la muqueuse gastrique ou nasale, elles peuvent y inoculer des microbes pathogènes.

Les vers intestinaux sont capables d'amener une septicémie à colibacilles avec issue fatale.

Bien que le péril soit en raison du nombre des parasites, il est très dangereux pour un animal de porter des vers intestinaux, même isolés. Ainsi, nous avons vu un seul trichocéphale amener une septicémie mortelle. Le danger de la présence des helminthes est surtout en rapport avec la richesse de la flore intestinale de l'hôte en microbes pathogènes.

Il ne serait pas surprenant que les parasites transmissent également le virus cancéreux. Borrel a constaté chez 2 rats la présence de cysticerques dans les tumeurs cancéreuses du foie et du rein.

D'autre part, nous avons plusieurs fois trouvé, dans le tube digestif de singes et de chevaux, des polypes d'origine inflammatoire au point de fixation des larves d'œstres ou de différents nématodes (ascaride, physaloptères).

Il se peut donc que ces proliférations adénomateuses soient dues à l'intervention de ces parasites.

EXPLICATION DE LA PLANCHE X

Fig. A. — Représente la coupe histologique d'un appendice humain au point même où sa muqueuse est transfixée par une femelle d'oxyure.

On voit que ce parasite s'est engagé profondément dans la muqueuse appendiculaire. Le grossissement est assez fort pour permettre de distinguer des œufs dans l'intérieur de l'oxyure.

La muqueuse est ulcérée ; on ne reconnaît de glandes qu'au point de fixation du parasite.

Fig. B. — *Même endroit.* Le dessin représente un point autour de la cuticule du parasite. On y voit des leucocytes et un grand nombre de microbes prenant le Gram.

Fig. C. — Coupe histologique de la paroi cœcale d'un chimpanzé atteint de trichocéphaliase et mort de septicémie à coli-bacilles.

a, *a*. Extrémité antérieure d'un trichocéphale logé dans un vaste foyer inflammatoire ayant détruit la sous-muqueuse et, dans un point, toute l'épaisseur des couches musculaires (*c*).

b, *b'*. Mêmes lésions atteignant la couche sous-séreuse.

d, *d'*. Coupes d'un trichocéphale traversant la couche superficielle de la muqueuse intestinale.

Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles

Par M. SWELLENGREBEL

(Travail de l'Institut zoologique de l'Université d'Amsterdam.)

Suite et fin.

III

SPIROCHÆTA BALBIANII LAV. ET MESN. (11). SYN : TRYPANOSOMA BALBIANII CERTES (3)

Cet intéressant organisme, qui se trouve dans le stylet crystallin d'*Ostræa edulis* et quelques autres Lamellibranchiates, a été étudié à plusieurs reprises par Certes (3), Lustrac (13), Laveran et Mesnil (11) et autres savants. Parce que cet organisme est pourvu d'une membrane ondulante, Certes, qui le découvrit, crut devoir le ranger parmi les Trypanosomides. Laveran et Mesnil sont cependant d'un autre avis. Ils affirment que l'organelle, qu'on avait pris jusqu'alors pour une membrane ondulante, n'est pas homologue à l'organelle du même nom des Trypanosomides, mais qu'on a affaire ici à une gaine périplastique qui est, pour ainsi dire, trop grande pour l'entoplasme qu'elle couvre, de sorte qu'on voit çà et là des plis de cette gaine s'étendre hors du contour cellulaire.

Tout récemment, l'organisme a été l'objet d'une étude minutieuse de Perrin (17), qui apporte bien des faits nouveaux et où on trouvera citée la bibliographie complète. Quelques-uns de ces faits ont été mis en doute par Mesnil (14) et Woodcock (25), et c'est pour cela que j'ai cru utile de réétudier *Sp. balbianii* pour voir s'il faut le ranger parmi les Trypanosomes, comme le croit Perrin, ou parmi les Spirochètes, comme le font Laveran et Mesnil, Prowazek et Schaudinn.

Les Spirochètes que j'ai étudiés provenaient d'huîtres fraîches, recueillies au Helder (Hollande septentrionale) et que

j'ai reçus par les bons soins de M. le D[r] Redeke, directeur de la Station zoologique, auquel j'exprime ici mes vifs remerciements pour sa bienveillance. La plupart des huîtres examinées ne contenaient pas de stylet cristallin. J'en ai trouvé cependant quelques-uns qui étaient bien développés, d'une longueur d'environ 5 centimètres. Ils étaient préparés à la manière de Perrin. Tandis que le stylet cristallin fourmillait de spirochètes, l'intestin de l'huître en était presque tout à fait dépourvu.

Examen a l'état vivant. — Cet examen avait pour but d'étudier le mouvement de l'organisme. Comme chez *Spirillum giganteum*, on peut constater ici que le mouvement est double : 1° un mouvement qui fait avancer la cellule, et 2° un mouvement ondulant. Le premier est assez lent, tandis que le second est très vif. A ces deux modes de mouvement, se joint un troisième, celui de flexion de la cellule, qui a été décrit minutieusement par Perrin. Je n'ai pas vu les individus en mouvement rapide, mais beaucoup des formes de mouvement qui précèdent, d'après Perrin, l'enkystement. L'extrémité de la cellule se recourbe et s'applique contre la partie de la cellule située le plus près de l'extrémité recourbée. Puis celle-ci se glisse le long de la cellule, de sorte que la courbe, qui se trouvait d'abord à une extrémité de celle-ci, s'approche du milieu, puis de l'autre extrémité, pour disparaître enfin. Ce mouvement peut donner lieu à des erreurs, comme nous le verrons plus tard.

Technique. — Pour fixer les cellules, j'ai vidé le stylet cristallin (en le pinçant) dans des gouttes de formaldéhyde à 35 0/0, placées sur des lamelles. On les laissait dessécher et alors les préparations étaient prêtes à être colorées. Ce mode de fixation, dont j'avais usé avec succès pour *Spirillum giganteum*, m'a donné ici également d'excellents résultats. Je n'ai vu que très rarement des contractions protoplasmiques. Pour la coloration, j'ai fait usage des méthodes de Heidenhain et de Giemsa. Pour étudier la membrane cellulaire, j'ai coloré au bleu de méthylène. La première méthode m'a donné les meilleurs résultats.

Protoplasme et membrane cellulaire. — La structure du protoplasme est assez simple, beaucoup moins compliquée que *Sp. giganteum*. Souvent on peut constater, sous ou entre les bandes chromatiques (*v. infra*), des alvéoles situées en une

rangée (fig. 58). Je n'ai jamais vu deux rangées parallèles comme on l'observe si souvent chez *Sp. giganteum*.

La membrane cellulaire n'est pas facile à démontrer, parce qu'elle ne se colore que faiblement. J'ai tâché de la colorer au bleu de méthylène. Cette méthode n'a donné que des résultats médiocres, parce que la coloration restait toujours faible. Cependant on peut reconnaître de cette manière une membrane cellulaire, qui se distingue du protoplasme, par le ton plus foncé.

Pour isoler la membrane cellulaire, j'ai fait agir, sur es cellules fixées, une solution à 10 % de carbonate de soude, pendant 48-72 heures. Après ce laps de temps, le protoplasme s'était dissous et la membrane restait comme une gaine vide, faiblement colorée. On a les mêmes résultats en employant l'acide chlorhydrique concentré. La membrane cellulaire de . *balbianii* a donc une grande ressemblance avec celle de *Spirillum giganteum*, en ce qui concerne la colorabilité.

Aux extrémités des cellules, on voit le plus souvent une région hyperchromatique, qui semble être un épaississement de la membrane cellulaire. Ceci n'est cependant pas le cas, parce qu'on ne les trouve pas sur les membranes isolées. Quelquefois on retrouve cette partie chromatique située sous une calotte apicale plus faiblement colorée (fig. 58), de sorte qu'il est probable qu'on a affaire ici à un produit protoplasmique, qui doit être homologué vraisemblablement à la partie chromatique qui se trouve sous la calotte chez *Spirillum giganteum*.

Quelquefois on rencontre des cellules avec des protoplastes dont la structure est partiellement déchirée par la formation de grandes lacunes, qui divisent le protoplaste en deux ou plusieurs morceaux et qui par leur longueur sont bien distincts des vacuoles (fig. 59). On a affaire sans doute à des produits de plasmolyse peu intense. Les figures ressemblent parfaitement à celles que Alfr. Fischer donne de la plasmolyse de *Spirillum undula* et qu'il a pu produire, en fixant des préparations de cet organisme, sans prendre de précautions contre la dessiccation des spirilles non fixés. Il désigne ces sortes de plasmolyse comme « *Präparationsplasmolyse* ». Vraisemblablement il faut attribuer aussi la plasmolyse de *Sp. balbianii* à des fautes de préparation. Heureusement ces figures

sont très rares. Quoi qu'il en soit, il est clair que *Sp. balbianii* rentre dans le système général de la cellule bactérienne, c.-à.-d. qu'il y a une ou plusieurs vacuoles, contenant un liquide produisant, avec le concours du protoplasme imperméable, la turgescence de la cellule. Le tout est entouré d'une membrane cellulaire qui se montre comme une ligne mince, faiblement colorée. Il faut remarquer, qu'à cet égard, le Spirochète s'éloigne de *Sp. gallinarum*, qu'on ne peut pas plasmolyser, d'après Prowazek (18). Hartmann et Mühlens citent (8), comme un caractère qui distingue les Spirochètes des Spirilles, le fait que les Spirochètes ne possèdent pas de membrane cellulaire véritable et qu'ils ne peuvent pas être plasmolysés. Ceci n'est pas vrai pour *Sp. balbianii*, comme nous venons de le voir, de sorte que ces caractères ne doivent pas être regardés comme communs à tous les Spirochètes.

La largeur de la cellule de *Sp. balbianii* est assez constante (2 à 3 μ). En revanche, la longueur peut varier beaucoup. Les cellules que Perrin a données semblent être beaucoup plus courtes que celles que j'ai observées moi-même. Les Spirochètes des huîtres du Helder ont une longueur de 52-106 . Laveran et Mesnil ont cru pouvoir conclure à une division transversale des cellules, en se basant sur cette grande variabilité de la longueur et on ne saurait vraiment expliquer ce fait d'une autre manière.

Structure du filament nucléaire. — Cette structure a été décrite pour la première fois par Laveran et Mesnil qui affirment que la substance chromatique est disséminée dans la cellule, sous forme de bâtonnets transversaux ou de granules, le plus souvent placés en une rangée, rarement en deux. Perrin affirme qu'on n'a pas affaire ici à une rangée de bandes transversales, mais que ces bandes sont liées entre elles par des fils minces, de sorte qu'on a en réalité une spirale ou filament en zigzag.

Je puis confirmer les constatations de Perrin, avec cette réserve qu'au moins dans quelques stades du développement, la nature spiralée du filament nucléaire est très indistincte et n'existe même probablement pas sur toute la longueur. Dans ces stades, on voit dans la cellule des bandes transversales, placées à peu près perpendiculairement à l'axe longitudinal de

la cellule. Quelquefois on peut observer çà et là des filaments qui réunissent deux bandes voisines, mais il ne se forme pas un fil continu. Les bandes ne sont pas toutes de la même épaisseur (fig. 54); quelquefois on observe des bandes épaisses et minces alternées. La distance entre deux bandes voisines est aussi très inconstante. Chez quelques cellules elle ne dépasse pas 0, 3-0,6 μ. Chez d'autres elle est de 2 μ (fig. 53). Je ne crois pas qu'il faille distinguer ici deux variétés de la même espèce. Les formes aux distances petites et grandes, je les ai trouvées dans la même huître; dans les préparations elles se sont entremêlées. Peut-être a-t-on affaire ici à une division longitudinale des bandes, comme *Wager* (24) l'a décrit pour *Spirillum undula*.

La division du filament nucléaire a déjà été décrite par Perrin. Mes observations sont un peu différentes des siennes, de sorte que je crois utile de les décrire ici.

La division commence par la différentiation du filament en parties achromatiques et chromatiques. Les dernières se montrent comme des granules situés sur une spirale nettement visible formée par la partie achromatique qui a gardé sa nature filamenteuse (fig. 55). Je n'ai pu m'assurer si les bâtonnets chromatiques se lient entre eux en une spirale avant la division, ou si la spirale existe toujours, mais ne devient visible qu'au commencement de la division.

Après la différenciation des granules chromatiques, ceux-ci commencent à se diviser, tout comme chez *Spirillum giganteum*, de sorte qu'on a maintenant deux granules à chaque tour de la spirale achromatique (fig. 57). En même temps le dernier devient de plus en plus indistinct et finit par disparaître tout à fait. Les tours de la spirale sont peu inclinés sur l'axe longitudinal de la cellule, et après la division des granules, les granules fils restent l'un près de l'autre. Il en résulte qu'il se forme après la division, des groupes composés de quatre granules, séparés par des espaces vides (fig. 56, 57). Ce groupement par quatre a aussi été observé par Perrin. Seulement, d'après lui, les groupes se constituent d'une manière différente: il se forme un bâtonnet axial qui se divise en plusieurs granules, lesquels se rangent en groupes de quatre après division. Il me semble que les fig. 3-6 de son mémoire ressemblent beaucoup à celles que j'ai données,

de quelques formes de dégénérescence de *Spirillum giganteum*, de sorte qu'il se peut très bien qu'on ait affaire ici également à des formes d'involution. Quoi qu'il en soit, ces stades manquaient toujours dans le cycle évolutif de *Sp. balbianii* des huîtres de Helder.

Le groupement par quatre des cellules commence à s'effacer lentement, de sorte qu'il se forme deux rangées de granules situés à des intervalles égaux les uns des autres (fig. 56). Ces granules se fusionnent, formant deux bâtonnets chromatiques latéraux (fig. 57). Les deux bâtonnets se divisent alors de nouveau en granules qui reconstituent les bandes transversales (fig. 56). On peut suivre tous les stades de la division dans une cellule.

On voit, par cette description, que la division du filament chromatique de *Sp. balbianii* présente une grande ressemblance avec celle de *Spirillum giganteum*, mais que la première se distingue de dernière par les stades finaux de la division, qui ne sont pas du tout clairs.

Division cellulaire. — Perrin dit que la division cellulaire de *Sp. balbianii* est longitudinale et il en donne quelques figures, qui sont cependant très peu convaincantes. Les figures 11 et 24 de son mémoire ne montrent que deux cellules accolées, chose très commune dans les préparations; la figure 28 ressemble à un stade de dégénérescence qui survient assez souvent et qui sera décrit plus loin. Enfin la figure 8 semble montrer un stade véritable de division. Perrin affirme que c'est le stade final de la division longitudinale. Cependant, avec l'expérience acquise chez *Spirillum giganteum*, je serais plus incliné à interpréter cette forme comme le stade final de la division transversale.

En examinant mes préparations, j'ai trouvé plusieurs stades qui me perment d'affirmer que la division s'accomplit transversalement. Elle commence par la formation de deux granules, au milieu de la cellule, qui ne sont vraisemblablement que des proéminences de la membrane dans la cellule. En ce point, celle-ci présente un renflement. A un second stade, les deux granules se sont réunis et forment maintenant une paroi qui divise la cellule en deux.

A l'endroit où la cloison s'est formée, la cellule commence

à s'étrangler (fig. 49, 50, 51) de plus en plus, de sorte que les deux cellules filles sont enfin tout à fait indépendantes l'une de l'autre (fig. 52). Cette division ressemble parfaitement à celle des bactéries véritables et est même plus typique que celle de *Spirillum giganteum*, à cause de la formation d'une cloison transversale. A cet égard, *Sp. balbianii* se rapproche donc plus du genre *Bacillus*, et s'éloigne des autres Spirochètes.

A côté de ces stades de division transversale typique, j'ai vu quelquefois des cellules qui s'étaient amincies au milieu, de sorte qu'elles ressemblaient à des stades de division de *Spirillum giganteum*. Je n'ai cependant jamais vu d'autres formes pouvant être mises en rapport avec la première, de sorte qu'il est fort douteux encore qu'on ait affaire ici à un stade de division (fig. 2).



Fig. 2. — Division atypique (?) de *Sp. balbianii* (2250).

J'ai vu quelquefois des formes qu'on pourrait interpréter comme des stades d'une division longitudinale (fig. 62). Elles n'ont cependant rien affaire avec une division, mais ne sont autre chose que des cellules en train de faire des mouvements glissants (comme je l'ai décrit en parlant de la locomotion), tuées juste au moment où l'une des extrémités de la cellule, glissant le long d'elle-même, avait atteint l'autre extrémité (où, par conséquent, la cellule s'était pliée en deux). Cette figure ressemble beaucoup à celle que Keysselitz donne de la division longitudinale de *Sp. anodontæ* et je serais isposé à l'interpréter de cette manière.

Membrane ondulante. — Cette organelle ne se montre que chez une petite partie des cellules, ce qui a déjà été observé par Perrin. Ce savant croit que l'organelle doit être homologuée à la membrane ondulante des Trypanosomides. Il a vu une bande hyperchromatique border la membrane et finir dans un granule à l'une des extrémités de la cellule. Il prend ce granule pour une sorte de centrosome. En outre il a vu des formes qu'il interprète comme des stades de division longitudinale de la membrane ondulante. Woodcock (25), dans un excellent

mémoire sur les Trypanosomes, affirme que Léger n'a pu retrouver cette bande chromatique, Laveran et Mesnil ne l'ont pas mentionnée dans leur mémoire. Ces auteurs ne croient pas que la membrane soit une membrane ondulante véritable, comme je l'ai déjà fait remarquer (cf. la critique de Mesnil 14).

En examinant l'organelle en question (assez commune chez les parasites des huîtres du Helder), on s'aperçoit bientôt que la membrane (comme je désignerai l'organelle provisoirement) est composée de deux éléments indépendants, qui peuvent manquer l'un ou l'autre. Ce sont :

1° La membrane véritable, qui a l'apparence d'un voile mince formant des proéminences qui s'étendent, en partie, en dehors du contour cellulaire (fig. 67). Ce voile est situé en partie sur le protoplasme, de sorte qu'il y a une grande ressemblance avec l'appendice périplastique de *Spirillum giganteum* (fig. 63, 64, 65). C'est pour cela que j'appellerai cette partie de la membrane : *Appendice périplastique.*

2° Une bande chromatique. Celle-ci peut atteindre une largeur de 0,5-1 μ, mais est souvent plus mince (fig. 64, 66, 68). Le plus souvent, cette bande se perd graduellement dans la paroi cellulaire, mais je l'ai vue une fois s'amincir brusquement et se terminer en un granule, ce qui est donc d'accord avec les affirmations de Perrin. Je n'ai cependant pas vu de lien entre ce granule et le filament chromatique (fig. 69). La bande chromatique ne borde pas toujours l'appendice, elle semble pouvoir changer de place dans son intérieur. Tantôt elle se trouve aux bords (fig. 64); tantôt elle se couche contre le protoplasme cellulaire, laissant libre l'appendice (fig. 68); enfin elle peut se diviser en deux cordons, dont l'un borde l'appendice, tandis que l'autre reste couché contre le protoplasme cellulaire (fig. 64). Il ressort de ces changements de position qu'il ne faut pas comparer cette bande aux bords chromatiques des membranes ondulantes des Trypanosomides. Il n'est pas rare que l'appendice manque, la bande est couchée alors contre le protoplasme, autour duquel elle s'est enroulée en spirale (fig. 69). Quelquefois on observe que la bande manque et qu'il n'y a que l'appendice autour de la cellule, mais ceci est rare (fig. 63).

Comme je l'ai déjà dit, la bande chromatique peut se diviser longitudinalement. Quelquefois on voit que l'un des cor-

dons est situé au milieu de l'appendice et ne s'est pas couché contre le protoplaste. La membrane ondulante semble se diviser dans ce cas (fig. 66), quoique ce soit seulement la bande qui se divise. Je ne sais s'il faut interpréter ainsi les figures de division longitudinale de la membrane ondulante que Perrin a données. Toutefois cette propriété de la bande peut causer des erreurs et c'est pour cela que je l'ai mentionnée ici.

Cette division peut aller plus loin encore et la bande peut se diviser en trois, ou même en plusieurs cordons (cf. la description des produits de dégénérescence), de sorte qu'on se rend compte qu'on n'a pas à faire ici à un commencement de division longitudinale e la cellule.

A cause de sa faible réfringence, il est très difficile de suivre le cours de l'appendice. Cependant, dans quelques cas, j'y suis arrivé, parce qu'il se colore parfois d'un ton légèrement brunâtre, ou gris bleuâtre, qui se distingue nettement du protoplasme gris. Il se montre alors de la même manière que l'appendice périplastique de *Spirillum giganteum*. On a ici également une bande large et transparente, qui est couchée à la surface de l'entoplasme et le couvre partiellement. La transparence de cette bande n'est qu'imparfaite, car on ne voit la structure du protoplasme, situé sous elle, qu'assez indistinctement (fig. 63, 65).

Les calottes, si fréquentes chez *Spirillum giganteum*, sont assez rares chez *Sp. balbianii* qui, en cela, s'éloigne des autres Spirochètes (v. *infra*). On voit cependant quelquefois la calotte très distinctement et aussi la partie chromatique qui lui est inférieure comme je l'ai déjà dit (fig. 58). La bande chromatique située dans l'appendice étant plus courte que la cellule, elle n'atteint pas la calotte, et il semble au premier abord que cette dernière n'a rien affaire avec la membrane ondulante. Ceci n'est cependant pas le cas, car l'appendice est en contact direct avec la calotte, mais le plus souvent on ne s'en aperçoit pas, vu la transparence de l'appendice et sa faible épaisseur aux extrémités de la cellule. J'ai vu une fois, très nettement, l'appendice périplastique se prolongeant en une calotte (fig. 65), ce qui prouve qu'un rapport existe vraiment entre ces deux organelles. Dans la dernière figure, on voit aussi (comme dans la fig. 63) que l'appendice est un épaississement véritable du péri-

plaste. On remarque également que la bande chromatique, très mince, s'est divisée. Le plus souvent l'appendice ne montre pas de structure; celui de la figure 65 montre des bandes claires et foncées, en alternance, ce qui doit être interprêté, peut-être, comme une structure alvéolaire.

Il résulte de cette description qu'on a le droit d'homologuer l'appendice périplastique de *Spirochaeta balbianii* avec celui de *Spirillum giganteum*, de sorte que l'on peut donner le même nom à ces deux organelles. La différence entre les deux organismes consiste dans le fait que *Sp. balbianii* possède, en dedans de l'appendice, une touffe de cordons chromatiques qui sont vraisemblablement des éléments contractiles causant la flexibilité de l'organisme. Ces éléments contractiles existent peut-être encore chez *Spirillum giganteum*, comme on pourrait le conclure des formes de macération, mais ils se sont réduits à des cordons difficiles à colorer. Il faut remarquer encore que cette conception de la membrane ondulante de *Sp. balbianii* est en concordance avec celle de Laveran et Mesnil (11).

Nous avons vu que le cil de *Spirillum giganteum* a, à sa base, un granule chromatique (fig. 34); d'autre part, que la bande d'éléments contractiles de *Sp. balbianii* a, elle aussi, un granule à une de ses extrémités. Ces deux granules montrent quelque rapport avec le filament nucléaire. En outre, le cil des Spirilles est composé de fibrilles longitudinales comme on le voit sur les cils détachés. Il y a, dans la structure et le rapport avec le filament nucléaire, quelque ressemblance entre le cil des Spirilles et la touffe d'éléments contractiles chez *Sp. balbianii*. Y a-t-il aussi un lien génétique? Je ne saurais le dire actuellement, mais les faits mentionnés plaident sans doute en faveur de cette hypothèse. Je crois cependant que nos connaissances sont encore trop restreintes pour résoudre cette question.

Formes d'involution. — *Sp. balbianii* montre deux formes d'involution remarquables : la macération et la formation de boules protoplasmiques.

La macération a été déjà mentionnée par Perrin, mais il n'en donne que des figures insuffisantes. L'étude de ces formes est très utile, parce qu'elle nous fait connaître la structure de la bande chromatique, située dans l'appendice périplastique, et



Fig 3. — Forme de macération de *Sp. balbianii* (1000).

son rapport avec l'entoplasme. Chez les cellules macérées, le protoplasme s'est aminci considérablement (fig. 70) et montre quelquefois des boules protoplasmiques. Un peu au-dessous de l'extrémité cellulaire, partent de la cellule deux ou plusieurs fibrilles qui se divisent souvent, mais finissent par se réunir et s'attacher près de l'autre extrémité de la cellule. Ces fibrilles sont les débris de la bande contractile qui, plus résistante que l'appendice périplastique, est devenue libre après la destruction du dernier, mais qui plus tard est désagrégée en fibrilles.

La question suivante s'est posée malgré moi : Faut-il interpréter comme formes de macération quelques figures que M. Perrin a publiées et qu'il interprète comme des stades de la formation des gamètes mâles (fig. 20 de son mémoire p. c.). En effet, ces stades ont une certaine ressemblance avec la figure 70, Pl. XII, et figure 3, qui représentent des formes de dégénérescence véritable; on y observe de la contraction irrégulière du protoplasme et de la formation des boules protoplasmiques (qui sont un signe de dégénérescence, comme nous l'avons vu déjà chez *Spirillum giganteum*). Quoi qu'il en soit, il est prématuré de vouloir prendre, sans plus de preuve, les formes que Perrin a données comme des gamètes mâles en voies de formation.

Les boules protoplasmiques ne montrent généralement pas une structure aussi régulière que celles de *Spirillum giganteum*. Elles ne deviennent pas aussi grosses et ont un diamètre de 2, 1-4, 8 μ. Quelquefois, elles sont situées à une des extrémités cellulaires (fig. 61), quelquefois latéralement. Souvent on remarque plusieurs boules dans une cel-

lule (fig. 70, et fig. *in* texte 3). Les boules contiennent souvent des granules fortement colorables, le filament nucléaire s'est effacé. Rarement on observe une structure alvéolaire comme dans les boules de *Spirillum giganteum* (fig. 61).

Dans les cellules où les boules se sont formées, le protoplasme s'est fortement contracté et laisse voir très distinctement la membrane cellulaire. Ces formes, et surtout celles que j'ai observées chez *Spirillum giganteum*, ressemblent beaucoup aux « kystes » que Perrin a décrits. Il dit que le protoplasme devient libre par une déchirure de la membrane, mais il n'en donne pas de preuves. A mon avis, il est très vraisemblable que les kystes et les expulsions de chromatine, que Perrin croit homologues à l'élimination de chromatine chez les Trypanosomes, ne sont autre chose que des produits d'un gonflement local, accompagné de chromatolyse pathologique de la cellule. En faveur de cette conception, par le fait qu'on trouve des boules chez les cellules évidemment en voie de dégénérescence, comme on peut s'en rendre compte en considérant les facteurs qui favorisent leur formation.

Il me reste encore à traiter des formes enroulées, qu'on peut voir souvent dans les préparations de *Sp. balbianii* et que Perrin prend pour des individus qui se préparent à l'enkystement. Ces formes sont évidemment homologues à celles que Levaditi (12) a décrites chez *Sp. gallinarum*, comme formes d'involution incorporées dans la cellule. Cette dégénérescence aboutit à la formation des boules protoplasmiques, ce qui est parfaitement d'accord avec les affirmations de Perrin.

V

SPIROCHAETA BUCCALIS

Sp. buccalis a été récemment le sujet d'importantes recherches de Prowazek et Hoffmann (19) et de Hartmann et Mühlens (8). Ces derniers auteurs sont même parvenus à cultiver cet organisme. Comme je l'ai déjà dit dans l'introduction, ces auteurs regardent les Spirochètes comme des Protozoaires.

Pour compléter cette étude comparative, j'ai étudié aussi un Spirochète, dont la nature spirochétienne n'est pas contestée, comme c'est le cas chez *Sp. balbianii*, qui semble vraiment

s'éloigner un peu des Spirochètes et se rapprocher, par son mode de division, des autres bactéries. Je ne crois pas que la description de *Sp. buccalis* soit inutile, parce que mes observations s'écartent quelquefois un peu de celle des auteurs cités.

Les Spirochètes provenaient de la couche muqueuse couvrant les dents, ils étaient examinées soit à l'état vivant, soit après fixation et coloration.

Division cellulaire. — Une question de grande importance est celle du mode de division. Ni Prowazek, ni Hartmann ne semblent être sûrs du mode de division, longitudinale ou transversale, mais ils regardent comme très important le fait qu'il se forme, entre les deux cellules, un filament clair qui s'étire et les unit encore quelque temps. Hartmann ajoute qu'il est clair qu'on a là un caractère différentiel des Spirochètes et des Spirilles. Comme nous l'avons déjà vu, c'est simplement un caractère que ces deux groupes d'organismes ont de commun.

D'après mes observations, je crois pouvoir affirmer que la division est transversale. Le premier signe de la division cellulaire consiste en la formation, au milieu de la cellule (fig. 79), d'une courbe brusque qui ressemble à une rupture. A cet endroit, la cellule commence à s'amincir et devient de plus en plus pâle, sans doute à cause de la rétraction du protoplasme, qui s'est divisé aussi. On ne voit pas la formation d'un granule au milieu de la cellule qui se divise, comme chez *Spirillum giganteum*. Après la formation des deux cellules filles, le fil qui les joint continue encore un peu à s'étirer, puis se rompt enfin. Ce fil peut devenir assez long, cependant je ne l'ai vu jamais aussi long que Hartmann et Mühlens le décrivent. On pourrait prendre la forme à deux cellules, réunies encore par un fil, pour un stade final de division longitudinale (fig. 78) (quoique cette hypothèse soit fort invraisemblable, après les observations faites chez *Spirillum giganteum*), mais je ne crois pas qu'on puisse expliquer ainsi le stade antérieur que je viens de décrire. La division s'accomplit donc, en toute apparence, de la même manière que celle de *Spirillum giganteum*. Il faut remarquer encore que ces observations sont en concordance avec celles de Zettnow (26) qui trouva également la division transversale chez les Spirochètes.

Contenu cellulaire. — Le contenu cellulaire des Spirochètes

a été étudié, en dehors de *S. balbianii*, seulement chez *Sp. gallinarum* par Prowazek (18) qui put le mettre en évidence en colorant au bleu de Krésyl. Chez *Sp. buccalis* on ne semble pas l'avoir vu. En colorant au Heidenhain, j'ai pu observer quelquefois ce contenu, inaltéré en toute apparence. Sur un fond gris foncé, on voit des granules qui sont étirés dans la largeur de la cellule, de sorte que je ne sais pas si on a affaire à des granules ou à des bandes épaisses transversales (fig. 71). En colorant au Giemsa, elles se colorent en rouge noirâtre. On ne voit pas de rattachement entre ces granules. Il faut bien se garder de confondre ces granules avec ceux qui résultent de la contraction plasmolytique du protoplasme (v. *infra*). Ces observations, qui sont d'accord avec celles que Prowazek a faites chez *Sp. gallinarum*, sont très imparfaites, de sorte qu'on n'a pas encore le droit d'homologuer ces granules (ou bandes transversales peut-être) au filament chromatique de *Spirillum giganteum* ou de *Spirochaeta balbianii*.

Périplaste. — Prowazek et Hoffmann ont signalé, chez *Sp. gallinarum* et *buccalis*, un périplaste qui forme, à un côté de la cellule, une membrane ondulante. Ces observations ont été confirmées par Hartmann et Mühlens. La membrane ondulante n'est, le plus souvent, visible qu'après macération de la cellule, ou après une préparation à l'acide phénique (Prowazek, 18).

Au moyen de la méthode de Heidenhain, sans différenciation des cellules colorées intensivement, qui m'avait donné chez *Spirillum giganteum* d'excellents résultats pour la coloration des cils et de l'appendice périplastique, je suis parvenu à découvrir uue membrane ondulante chez *Sp. buccalis*. Elle se montre comme une membrane claire, qui s'étend au delà du contour cellulaire, quelquefois aux concavités, d'autres fois aux convexités de la cellule (fig. 82). Quelquefois elle est également visible, quand elle est couchée sur la cellule, par son aspect brillant (fig. 74). Quand elle est visible à une des extrémités de la cellule, on s'aperçoit qu'elle prend son origine dans une calotte d'un ton clair, ressemblant beaucoup à celles de *Spirillum giganteum*, mais elle est plus longue (fig. 72). Cette observation a été faite aussi par Prowazek et Hoffmann. Les calottes sont le plus souvent pointues, de sorte qu'elles donnent aux cellules ce même aspect, bien que l'entoplasme lui-même soit de forme

arrondie. D'après ces observations, je crois qu'il est très probable que la « membrane ondulante » de *Sp. buccalis* et l'appendice périplastique de *Spirillum giganteum* sont homologues.

Schaudinn a le premier signalé des cils chez les Spirochètes. C'est chez *Treponema pallidum* qu'il a pu signaler des continuations très fines du corps cellulaire, qu'il a pris d'abord pour des cils, plus tard pour des continuations du périplaste. Ces organelles ont été retrouvées par Prowazek et Hoffmann chez *Sp. balanitidis* et *buccalis*, ce qui a été confirmé par Hartmann et Mühlens. Les auteurs ne regardent pas comme des cils véritables ces prolongements du périplaste.

J'ai vu fréquemment ces pseudo-cils. Dans les préparations colorées par la méthode mentionnée plus haut, ils sont assez communs, mais je ne les ai jamais vus si longs que dans les figures de Hartmann et Mühlens.

Ils se montrent presque toujours comme des continuations directes de la calotte que j'ai mentionnée plus haut et qui est l'extrémité du périplaste. Le plus souvent on ne trouve cette calotte qu'à une des extrémités de la cellule (fig. 75) et alors il n'y a naturellement qu'un cil. D'autres fois, il y a une calotte aux deux extrémités. La calotte passe toujours insensiblement dans le pseudo-cil, comme on le voit aussi chez *Spirillum giganteum*.

On voit donc que l'implantation des pseudo-cils e *Sp. buccalis* est le même que chez les cils véritables de *Spirillum giganteum*. Ces cils, nous l'avons déjà vu, sont des continuations du périplaste, qui sont liés peut-être au fil nucléaire, mais ceci n'est pas encore établi avec certitude. Les pseudo-cils sont également des prolongements du périplaste et je ne vois pas, pourquoi ces deux organelles ne peuvent être homologuées ; je crois plutôt qu'elles sont parfaitement homologues et qu'on a le droit de désigner les continuations périplastiques de *Sp. buccalis*, sous le nom de *cils*.

Formes d'involution. — Comme *Spirillum giganteum* et *Spirichaeta balbianii*, *Sp. buccalis* montre, comme forme d'involution la plus accentuée, la formation des boules protoplasmiques Les boules ont déjà été décrites par Prowazek (18) chez les *Sp. gallinarum*. Il ne les prend pas pour des formes d'involution, mais pour des produits de copulation de deux cellules, parce que les

boules sont situées le plus souvent au milieu. J'ai vu souvent ces boules. Elles ont une forme de navette, comme chez les Spirilles et montrent souvent des régions plus fortement colorées que les autres (fig. 80). Ce sont quelquefois des régions circonscrites en forme de fer à cheval, figure qu'on voit souvent chez *Spirillum giganteum* (fig. 39.) D'après mes observations chez ce dernier organisme, je crois pouvoir affirmer que les boules protoplasmiques de *Sp. buccalis* ne sont que des formes de dégénérescence.

Une autre forme de dégénérescence est la macération des cellules. Elles se décomposent en quelques cordons, colorés assez distinctement, entourés du périplaste qui prend un ton pâle (fig. 73). Cette macération est comparable à celle de *Sp. balbianii*.

Assez souvent on observe des formes plus ou moins enroulées (fig. 83). On connaît déjà ces formes chez *Sp. gallinarum* (Prowazek, Levaditi) et *Sp. balbianii*. D'après les recherches de Levaditi, il est clair que ces formes enroulées sont les premiers signes de dégénérescence en ce qui concerne *Sp. gallinarum*, et j'ai essayé de démontrer qu'il en est de même pour *Sp. balbianii*.

Plasmolyse et influence de quelques sels et acides. — Il me reste à parler encore de deux sujets : la plasmolyse et l'influence de quelques substances chimiques, dont on a fait l'étude, dans l'intention d'en déduire quelques conclusions utiles à l'étude de la place systématique des Spirochètes.

Comme nous l'avons déjà vu, il y a chez *Sp. balbianii*, une plasmolyse incontestable qui me mit dans la possibilité de démontrer avec certitude l'existence d'une membrane cellulaire.

Prowazek dit qu'il ne put plasmolyser *Sp. gallinarum* dans une solution de chlorure de sodium à 5-10 0/0 et il prétend que c'est là une preuve de plus de la nature non bactérienne des Spyrochètes. Hartmann et Mühlens confirment ces résultats chez *Sp. buccalis*, et ils en tirent la conclusion que les Spirochètes n'ont pas de membrane cellulaire.

Il est très difficile de suivre la plasmolyse, même si elle existe, chez des organismes aussi minces que les Spirochètes, surtout quand elle est assez faible. La turgescence de la cellule

sera très grande, à cause de son peu de largeur (0,23-0,3 μ) qui rend la tension superficielle très grande. On peut démontrer cependant qu'il y a vraiment plasmolyse de la manière suivante : On fait un mélange d'un peu de matière contenant des Spirochètes avec une solution à 10 0/0 de NaCl, on dessèche, on fixe dans la flamme et colore au violet de méthyle pendant une minute, puis on lave, sèche, et monte. Dans les préparations ainsi faites, on peut observer, presque dans chaque cellule, une plasmolyse plus ou moins intense. Quelquefois le protoplasme s'est divisé en une rangée de granules (qu'il ne faut pas confondre avec les bandes transversales des cellules normales, dont elles se distinguent par leur épaisseur plus grande, cf. fig 77.); d'autres fois le protoplaste s'est divisé en quelques morceaux assez longs (fig. 76). Les parties entre les fragments de protoplasme sont faiblement colorées; ce sont des parties de la membrane libre. Il y a donc une plasmolyse véritable, non seulement chez *Sp. balbianii*, mais aussi chez *Sp. buccalis*. En outre il y a une membrane cellulaire chez ces deux organismes, qui rentrent dans le système osmotique commun des Bactériacées.

Prowazek, Hoffmann, Hartmann et Mülhens ont fait des études sur l'influence de quelques substances chimiques sur les Spirochètes. En voici les résultats : Des solutions diluées de potasse et de carbonate de soude font pâlir les cellules. Prowazek ajoute que ce n'est pas le cas chez les Bactéries. Dans l'acide chlorhydrique dilué les cellules se gonflent et dans l'acide nitrique dilué, elles sont dissoutes. Parce que ces substances ont une influence moins destructive sur les Bactériacées, les auteurs pensent qu'il y a encore ici un fait contribuant à compléter la preuve que les Spirochètes ne sont pas des bacilles.

J'ai répété ces études et je suis arrivé à des conclusions différentes, comme on le verra par la description suivante. Pour étudier l'influence des diverses substances, on fit des frottis sur lamelle, qu'on desséchait à la température de la chambre, sans les fixer après. Puis on les mit dans des boîtes de verre contenant les substances chimiques, on les y laissait pendant 20 heures. Après cela, on lavait à l'eau, colorait au violet de méthyle (1 minute), lavait, séchait, montait. Voici les résultats :

Une solution saturée de carbonate de soude ne changeait pas l'aspect des Spirochètes ni des autres organismes comme *Bac. maximus buccalis*, qui est un bacille incontestable. Des solutions de potasse à 10-20 0/0 faisaient pâlir la cellule. Cependant elles exerçaient cette influence, non seulement sur *Sp. buccalis*, mais également sur *Bac. maximus*. Une solution d'acide nitrique dilué (1 vol. acid. nitr. pour 5 vol. eau distil.) ne faisait que pâlir les cellules de *Sp. buccalis*, il en était de même avec *Bac. maximus*. Une solution d'une concentration égale d'acide chlorydrique avait les mêmes effets sur le bacille et le Spirochète. Il est donc clair que les bacilles véritables et les Spirochètes se comportent de la même manière vis-à-vis des substances énumérées.

V

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

J'ai cherché à démontrer dans ce mémoire :

1° Que *Spirochaeta balbianii* n'est pas, comme le pense Perrin, un trypanosomide, mais un organisme se rapprochant étroitement des Bactériacées, en particulier des Spirilles, comme l'affirment Laveran et Mesnil ;

2° Que *Spirochaeta buccalis* se rapproche également des Bactériacées et que, ce que Prowazek, Hartmann, etc., ont pris pour des caractères différentiels entre les Spirochètes et les Spirilles, sont justement ceux qui les unissent.

Je résumerai ici brèvement les preuves que je puis donner en faveur de ces affirmations :

a) Chez les trois organismes, il y a une membrane cellulaire et, à son intérieur, un protoplaste avec des vacuoles (ces dernières ont été constatées seulement chez *Spirillum* et *Spirochaeta balbianii*) qui constituent un système osmotique, homologue à celui des bactéries véritables étudiées par Alfr. Fischer., comme on peut s'en rendre compte par la plasmolyse, qui s'effectue non seulement chez *Sp. balbianii* mais aussi chez *Sp. buccalis;*

b) La cellule de *Spirochaeta* et *Spirillum* a une forme allongée, aux extrémités arrondies. L'extrémité en apparence pointue, que montrent quelquefois les Spirochètes et les Spirilles est due à l'étirement de la calotte périplastique;

c) Chez *Spirillum giganteum* et *Sp. balbianii*, le noyau se présente sous la forme d'un filament chromatique spiralé, situé à la périphérie de la cellule. Ce filament nucléaire se divise longitudinalement. Chez *Sp. buccalis*, on ne voit qu'une rangée de granules, plus larges que longs, occupant toute la longueur de la cellule ;

d) La division cellulaire est tranversale. Chez *Spirillum giganteum* et *Spirochaeta buccalis* elle se fait par étranglement et il se forme un fil réunissant encore quelque temps les cellules filles. Chez *Spirochaeta balbianii*, la division se fait par la formation d'une cloison transversale ;

e) A une, ou quelquefois aux deux extrémités de ces organismes, se trouve un prolongement de la cellule, que j'ai nommé *la calotte*. Elle est assez courte chez *Spirillum giganteum*, plus longue chez *Sp. buccalis* et chez *Sp. balbianii* on ne la voit qu'assez rarement. (Quand elle se trouve, elle a le même aspect que celle des Spirilles.) De cette calotte, qui est quelquefois pointue chez *Spirillum* et *Sp. buccalis*, part, chez ces deux organismes, un fil plus mince que la calotte : le cil. Il peut (chez *Spirillum giganteum*) s'effiler quelquefois et donner l'apparence d'une touffe de cils. Le cil des Spirochètes est donc homologue à celui des Spirilles. A la base se trouve (chez *Spirillum giganteum*) un granule chromatique. Chez *Sp. balbianii*, on n'a pas de cil, mais une bande chromatique commençant par un granule et couchée dans l'appendice périplastique ;

f) Autour de la cellule est située une couche très mince, périplastique, composée de plasma vivant. Dans une région déterminée, cette couche s'est épaissie, de sorte qu'il se forme une bande large et peu épaisse, qui s'enroule autour de la cellule en une spirale plus ou moins accentuée et qui, en s'étendant hors du contour cellulaire, ressemble à une membrane ondulante. Chez *Spirillum giganteum* et *Spirochaeta plicatilis*, cette bande, que j'ai nommée *appendice périplastique*, est d'une structure alvéolaire ; cette structure a été observée une fois chez *Sp. balbianii* mais jamais chez *Sp. buccalis*. MM. Hartmann et Mühlens affirment cependant l'avoir vue.

g) Vis-à-vis des solutions de Na_2CO_3, HNO_3, HCl et KOH, *Spirochaeta buccalis* se comporte de la même manière que *Bac. maximus buccalis*. Pour Na_2CO_3 et HCl (concentré), c'est aussi

le cas de *Sp. balbianii*, l'influence des autres substances n'a pas été étudiée ;

h) Les trois organismes montrent une même forme de dégénérescence très intéressante : les boules protoplasmiques au milieu ou à l'une des extrémités de la cellule.

On voit donc qu'il n'y a aucune raison valable d'éloigner les Spirochètes de la famille des Spirillacées de Migula (16). Je crois cependant qu'il sera utile de modifier un peu la systématique de cette famille. Comme on le sait, les Spirillacées sont divisées en deux groupes : Spirilles flexibles et non flexibles. Dans le dernier groupe, contenant les spirilles véritables, la division se fait selon l'implantation et le nombre des cils : Les cellules monotriches forment le genre *Vibrio*, les cellules lophotriches celui de *Spirillum*. Il s'ensuit qu'il faut ranger *Spirillum giganteum* dans le genre Vibrio.

C'est dans la diagnose de la famille et dans la systématique du genre *Spirochaeta*, qu'il faut, à mon avis, faire ces changements. Voilà le système des Spirillacées que je propose :

3e Famille : Spirillaceae, Migula.

Cellules aux extrémités arrondies, constituant une partie de spirale. La division cellulaire est transversale et se fait quelquefois par une cloison transversale, avant la formation de laquelle la cellule s'accroît longitudinalement. *Quelquefois il n'y a pas de cloison transversale et la division se fait par étranglement de la cellule mère. Après la division, les cellules filles restent unies encore quelque temps par un filament étiré. Les cils (s'il y en a) prennent leur origine de la calotte périplastique et sont un prolongement du périplaste qui forme en outre l'appendice périplastique. La calotte, souvent pointue, donne à la cellule un aspect pointu.* [1]

1re Sous-famille : Spirillaceae. (*Nov. fam.*) Les cellules ne sont pas flexibles.

Genre : *Spirillum* et *Vibrio* avec la diagnose de Migula.

2e Sous-famille : Spirochaetaceae (*Nov. fam.*) Les cellules sont flexibles.

1. Dans une conférence faite à Lille, Levaditi a donné une description des spirochètes, qui ne diffère de la mienne qu'en quelques points.

1[er] Genre : *Spirochaeta.* Ehrenberg.

Cellules sans cils, avec appendice périplastique bien développé et souvent de structure alvéolaire. Quelquefois, il y a une bande de myonèmes dans l'appendice. (Type : *Spirochaeta plicatilis.* Ehrenb. Provisoirement je mets ici *S. balbianii.*)

2[e] Genre : *Treponema.* Schaudinn.

Cellules avec un cil à une, quelquefois aux deux extrémités, qui est le prolongement de la calotte, l'appendice a été démontré quelquefois. (*S. buccalis, dentium: Treponema pallidum.*)

3[e] Genre : *Borrelia,* N. gen.

Cellules avec des cils péritriches. (*Sp. gallinarum.*)

*
* *

Il ne me reste qu'une question à traiter. Les bacilles ont-ils des rapports avec les flagellées, et en particulier avec les Trypanosomides ? Je crois que oui, et en voilà la raison :

Tout récemment, Robertson (27) a publié un mémoire très intéressant sur des changements de la structure nucléaire de *Trypanosoma brucei.* L'auteur dit que le noyau se change quelquefois en un filament spiralé qui traverse une partie de la cellule. Ce filament nucléaire ressemble beaucoup à celui de *Spirillum giganteum, Bacillus maximus buccalis* et *Spirochaeta balbianii* et je crois que c'est là plus qu'une simple ressemblance accidentelle. Quant à la ressemblance de l'appendice à la membrane ondulante, je crois qu'il est prudent de n'y pas accorder trop de valeur. On se rend compte que ce rapport entre les bacilles et les flagellées est encore bien vague; toutefois elle peut engager à faire des études dans cette direction.

En terminant, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à M. le professeur Sluiter et M. le D[r] Versluys qui ont bien voulu, comme toujours, m'aider de leurs conseils au cours de mes recherches.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. Borrel. — Cils et division transversale chez les spirilles de la poule. *C. R. de la Soc. de Biol.* Tome LX, 1906, p. 138.

2. Butschli. — Uber die Bauder Cyanophyceënn und Bakterien. Leipzig. Engelman 1896. — Weitere Untersuchungen, etc. *Archiv. f. Protistenkunde.* Bd. I. 1902.

3. Certes. — *Bullet. Société zool. de France*. Tome VII, 1882.

4. Ellis. — Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum. *Centralbl. f. Bakt.*, etc., I, Abt. Orig. Bd XXXIII, 1903.

5. Fischer. — Die Empfindlichkeit der Bakterien und das Bakterizide Serum. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd XXXV, 1900. — Vorlesungen über Bakterien Jena. G. Fischer, 1903. — Plasmolyse der Bakterien (*Ber. der. Kön. Ges. der. Wiss. Math. Phys. kl. Sitzung am*, 2 Marz 1891). — Untersuchungen über Bakterien. *Jahrb. f. Wiss. Botanik.* Bd XXVII, 1894.

6. Gohn und Sachs. — Beitrage zur kenntniss der anaerobe Bakterien des Menschen. *Centralbl. f. Bakt.*, etc., Orig. Bd XXXVIII, 1905.

7. Guilliermond. — Les corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. Revue. *Bulletin de l'Institut Pasteur*. Tome IV, 1906. — *C. R. Soc. de Biologie*, 1907. Tome LXII, p. 78.

8. Hartmann und Mühlens. — Uber Bacillus fusiformis und Spirochaeta dentium. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd LV, 1906.

9. Keysselitz. — Spirochaeta anodontae n. sp. *Arb. Kais. Ges. Amte.* Bd XXIII. Heftz, 1906.

10. Kutscher. — Die Vibrionen und Spirillenflora der Dungerjauche. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd XX, 1895.

11. Laveran et Mesnil. — Sur la nature bactérienne du prétendu trypanosome des huîtres (Tr. balbianii). *C. R. Soc. de Biol.* Tome LIII, 1901, p. 883.

12. Levaditi. — *Annales de l'Inst. Pasteur*. Tome XX, 1906.

13. Lustrac. — *Actes de la Société linéenne de Bordeaux*. Tome L, 1896.

14. Mesnil. — Revues des mémoires de Perrin. *Bullet. de l'Inst. Pasteur*. Tome IV, 1906 et tome III, 1905.

15. Meyer. — Practicum der botanische Bakterienkunde. Jena. G. Fischer, 1903.

16. Migula. — System der Bakterien. Jena. G. Fischer, 1897-1900.

17. Perrin. — Researches upon the life-history of. Trypanosoma balbianii (Certes). *Archiv. f. Protistenkunde*. Bd. VII, 1906.

18. Prowazek. — Morphologische und entwichelungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochäten. *Arb. Kais. Ges. Amte.* Bd XXIII. H. 2, 1906.

19. Prowazek u. Hoffmann. — Uber Balanitis und Mundspirochäten. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. I. Orig. Bd XLI, 1906.

20. Reichenbach. — Uber Verzweigung bei Spirillen. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. I. Orig. Bd XXIX, 1901.

21. Schaudinn. — Uber Generations und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaeta. *Arb. Kais. Ges. Amte.* Bd XX. H 3, 1904. — Zur Kenntniss der Spirochaeta pallida. *Deutsche med. Wochenschr.* N° 42, 1905.

22. Swellengrebel. — Zur Kenntniss der Cytologie von Bac. maximus buccalis Miller. *Centralbl. f. Bakt.* II. Abt. Bd XVI, 1906.

23. Thesing. — Spirochaeta, Spironema oder Spirillum? *Centralbl. f. Bakt.* Abt. I. Orig. Bd XL, 1906.

24. Wager. — Preliminary note upon the structure of bacterial cells. *Annals of Botany*. Vol. IX, 1895.

25. WOODCOCK. — The Haemoflagellates : a Review. *Quarterly Journal of Micr. Science.* New series. Vol. 50, part. 2, 1906.

26. ZETTNOW. — Über den Bauder Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. etc.*, Bd X, 1891. — Über den Bauder grossen Spirillen. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd XXIV, 1897. — Färbung und Teilung bei Spirochaeten. Eod. loc. Bd LII, 1906. — Cf. aussi R. Koch : uber Afrikanischen Recurrens, *Berliner. Klin. Wochenschr.* N° 7, 1906.

27. ROBERTSON. — Notes on certain blood-inhabiting Protozoa. *Proc. royal. phys. Soc. Edinburgh.* Vol. XVI, 1906, p. 232.

EXPLICATION DES PLANCHES

Les figures sont dessinées avec la chambre claire d'après Abbe, de Zeiss.

PLANCHE XI. — *Spirillum giganteum.*

Fig. 1. — Cellule avec fil nucléaire homogène. Zeiss. Apochr. Imm. 2 mill. Comp. ocul. 18.

Fig. 2. — Cellule au fil nucléaire différentié en granules chromatiques et fil achromatique. La structure protoplasmique est également visible. Le fil nucléaire est en voie de division. Ap. I. 2 mill. comp. oc. 18 (le même grossissement est employé partout, sauf quelques exceptions).

Fig. 3. — Le même que fig. 3. Les granules de volutine sont désignés dans cette figure, comme dans les autres par un grain noir avec un point clair au milieu. Le fil nucléaire est en division.

Fig. 4 et 5. — Cellule au fil nucléaire différentié. Commencement de la division des granules.

Fig. 6. — Dans cette cellule on voit clairement au commencement (désigné par a) la nature spiralée du fil nucléaire.

Fig. 7. — Cellule en voie de division.

Fig. 8. — Cellule après coloration momentanée au bleu de méthylène. La structure alvéolaire est nettement visible.

Fig. 9. — Commencement de la division cellulaire. La masse de protoplasme s'est entassée dans l'isthme.

Fig. 10. — L'isthme s'est retiré et le protoplasme s'est retiré de celui-ci.

Fig. 11. — Stade de division qui suit celui figuré dans fig. 9. La masse protoplasmique s'est divisée.

Fig. 12. — Cellule montrant le fil nucléaire et, à part, une structure alvéolaire fine.

Fig. 13. — Cellule montrant l'appendice périplastique à un des côtés de la cellule. On remarque son aspect luisant et la structure indistincte du protoplasme.

Fig. 14. — Cellule montrant l'appendice, se tournant autour de la cellule et montrant une structure alvéolaire. Remarquer le rapport entre l'appendice et la calotte.

Fig. 15. — Appendice comme celui de fig. 14. Le rapport entre l'appendice et la calotte est très clair. On voit aussi que l'appendice peut s'étendre au-delà du contour cellulaire.

Fig. 16, 17. — Ces deux figures montrent une extrémité de la même cellule. Dans fig. 17 on l'a dessiné, avec l'objectif relevé, dans fig. 16 on l'a dessiné avec objectif baissé. Dans fig. 16 on remarque les ganses que forme le fil nucléaire.

Fig. 18. — Cellule avec appendice très distinct. Il s'est formé une grande vacuole dans l'entoplasme, qui s'étend jusque dans le périplaste.

Fig. 19. — Cellule avec appendice ressemblant parfaitement à celui démontré par Bütschli. La structure alvéolaire est très distincte.

Fig. 20. — Cellule avec appendice hyalin.

Fig. 21, 22. — Cellule plus différentiée. L'appendice est encore reconnaissable à son aspect luisant.

Fig. 23. — Le même que fig. 21 et 22.

Fig. 24, 25, 26. — Plasmolyse.

Fig. 27. — Cellule avec appendice de structure alvéolaire. La calotte a la même structure.

Fig. 28. — Comme fig. 15.

Fig. 29. — Comme fig. 20.

Fig. 30. — Cellule d'une vieille culture. L'appendice est très distinct, comme aussi la structure alvéolaire. Il y a grande ressemblance avec les figures que donne Bütschli de *spirochaeta plicatilis*.

Fig, 31. — Cil de structure spirale. La calotte est pointue et forme le fil en s'amincissant.

Fig. 32. — Comme fig. 31, mais la calotte est invisible.

Fig. 33. — Comme fig. 31, mais la calotte passe brusquement dans le cil.

Fig. 34. — Cil avec granule basal distinct.

Fig. 35. — Extrémité d'une cellule, montrant la masse hyperchromatique sous la calotte. On voit aussi au flanc la membrane cellulaire distincte, s'amincir à l'extrémité de la calotte.

Fig. 36. — Cil détaché de la cellule, qui s'est effilée.

Fig. 37. — Cellule macérée.

Fig. 38. — Cellule morte avec protoplasme contracté. Remarquer au milieu le bâtonnet en forme d'haltère.

Fig. 39. — Cellule d'une longeur anormale montrant, au milieu, un boulet protoplasmique en forme de navette, avec une masse hyperchromatique en fer à cheval. Apochr. Imm. 2. mill. ocul. 4.

Fig. 40. — Comme fig. 38.

Fig. 41, 42. — V. la planche XII.

Fig. 43. — Comme fig. 35.

Fig. 44. — Comme fig. 37.

Fig 45, 46. — Comme fig. 38.

PLANCHE XII

Les fig. 41, 42 et 46, 48, *Spirillum giganteum*.

Les fig. 49-70, *Spirochaeta balbianii*.

Les fig. 70-83, *Sp. buccalis*.

Fig. 41. — Commencement de la formation d'une boule protoplasmique. Le fil nucléaire commence à se dissoudre.

Fig. 42. — Boule en voie de formation.

Fig. 46. — Boule adulte. L'ectoplasme est nettement visible.

Fig. 47. — Accumulation de granules de volutine dans un boulet.

Fig. 48. — Fusion des granules de volutine en un seul, qui simule un noyau.

Fig. 49. — Commencement de la formation de la cloison transversale, dans la cellule de *Sp. balbianii*.

Fig. 50, 51, 52. — Stades successifs de la division transversale.

Fig. 53. — Partie d'une cellule, avec, à grandes distances, des bandes transversales nucléaires.

Fig. 54. — Bandes transversales à petites distances. La structure spiralée du fil est quelquefois visible.

Fig. 55. — Différentiation du fil nucléaire. La structure spiralée est très nette.

Fig. 56, 57. — Différents stades de la division du fil nucléaire.

Fig. 58. — Cellule montrant une calotte distincte et, sous elle, une partie hyperchromatique. Le protoplasme est de structure alvéolaire, les bandes transversales traversent les alvéoles.

Fig. 59. — Plasmolyse.

Fig. 60. — Comme fig. 59.

Fig. 61. — Boule protoplasmique à structure alvéolaire. Le protoplasme, dans la cellule mère, s'est fortement contracté, la menbrane cellulaire est nettement visible.

Fig. 62. — Forme enroulée simulant une division longitudinale.

Fig. 63. — Cellule avec appendice périplastique, ne montrant pas de larges proéminences. On voit clairement qu'on a pas à faire à une menbrane, mais à un appendice comme chez *Spirillum giganteum*.

Fig. 64. — Cellule montrant à l'intérieur de l'appendice une bande chromatique large, qui ne s'étend pas dans une des proéminences de l'appendice. Dans l'autre proéminence la bande s'est divisée. Apochr. Imm. 2 mm. ocul. 4.

Fig. 65, 66. — Cellule avec une calotte, dont le rapport avec l'appendice est distinct. La bande chromatique très mince s'est divisée. Grossissement comme fig. 64.

Fig. 67. — Appendice sans bande chromatique. Grossissement comme fig. 64.

Fig. 68. — Cellule à bande chromatique mince, couchée contre le protoplasme, laissant libre l'appendice. Grossissement comme fig. 64.

Fig. 69. — Cellule avec une seule bande chromatique Remarquer le granule au commencement de la bande.

Fig. 70. — Cellule macérée, avec boulets protoplasmiques. Grossissement comme fig. 64.

Fig. 71. — Cellule du *Spirochaeta buccalis*, avec bandes chromatiques transversales, appendice périplastique, calotte étirée et cil court.

Fig. 72. — Cellule avec une longue calotte, le rapport avec le périplaste est visible.

Fig. 73. — Cellule macérée.

Fig. 74. — Cellule avec appendice la traversant.

Fig. 75. — Cellule à long cil; le rapport de la calotte avec l'appendice est visible.

Fig. 76, 77. — Plasmolyse.

Fig. 78, 79. — Stades de division transversale.

Fig. 80. — Boulet plasmatique. Remarquer la forme en navette et la partie chromatique en forme de fer à cheval.

Fig. 81. — Cellule montrant (comme fig. 75) le rapport entre le cil et la calotte.

Fig. 82. — Cellule montrant nettement la calotte et l'appendice.

Fig. 83. — Forme enroulée.

LA SOUMA
Trypanosomiase du Soudan français.

Note préliminaire

PAR LE D[r] G. BOUFFARD

Médecin-major des troupes coloniales. — Directeur du laboratoire du Haut-Sénégal et Niger à Bamako.

La Souma étudiée au Soudan par les vétérinaires Cazalbou et Pécaud est une trypanosomiase animale endémique dans le moyen et le haut Niger depuis Bandiagara jusqu'à Siguiri. Son berceau a peut-être été le Macina; aujourd'hui elle est implantée dans la riche vallée du haut Niger et rend impossible tout élevage.

Appelé à Bamako pour créer un centre vaccinogène, les circonstances nous ont permis d'observer plus de 200 cas de cette affection sur les troupeaux de bœufs de race zébu appartenant à l'administration locale et sur les génisses du laboratoire. Nous avons pu également l'étudier sur 15 chevaux et 30 ânes; nous ne l'avons pas encore observée chez les mulets.

Sur ce chiffre élevé d'animaux étudiés, Bovidés ou Équidés, une seule fois nous avons eu affaire, chez un cheval, à un trypanosome différent : *Tryp. pecaudi*, pathogène pour les Rongeurs, le chien et le singe.

On peut donc affirmer que la Souma est la seule trypanosomiase importante de la province de Bamako. Les Équidés et les Bovidés sont seuls atteints : l'infection naturelle n'a pas encore été vue chez les moutons et les chèvres.

Le *bœuf zébu* est d'une très grande sensibilité ; l'indigène, qui sait fort bien qu'il ne peut vivre ici, ne l'y importe jamais : les troupeaux de zébus existants y sont amenés par l'administration qui en a besoin pour nourrir les troupes de Kati et les indigènes employés en assez grand nombre aux travaux publics. Dans ces troupeaux, la maladie sévit toute l'année ; en pleine saison sèche, aux mois de février et mars, le laboratoire a perdu 6 génisses sur 10 provenant de la région de Tombouctou : la mortalité est certainement bien plus forte pendant l'hivernage.

Le petit *bœuf bambara*, quoique sensible, est bien plus résistant, et il ne succombe en forte proportion que dans les épizooties très meurtrières.

La mortalité sur les chevaux provenant du Mossi, région d'élevage du nord de la boucle du Niger, est certainement plus forte que sur les chevaux nés dans la région du Bamako.

Cette sensibilité, qui varie avec la race et le lieu d'origine, nous a fait distinguer 3 formes cliniques aux symptômes assez nettement tranchés :

1° La forme *aiguë* ou *septicémique*, observée seulement chez les Bovidés, tue l'animal en moins de 8 jours, terrifiant les bergers qui refusent de reconnaître la Souma qui, pour eux, doit toujours être de longue durée. Le laboratoire a perdu 11 génisses de cette Souma septicémique. Cette forme, chez laquelle l'amaigrissement n'a pas toujours le temps de se produire, est caractérisée par une forte fièvre, des selles diarrhéiques parfois sanguinolentes, une démarche vacillante. Généralement 48 heures après le début de la maladie, l'animal, le poil hérissé, se couche pour ne plus se relever; il meurt le 5e ou 6e jour en hyperthermie. Il mange un peu si on lui apporte de la nourriture : l'agonie dure 24 heures. Chez une génisse zébu dont le sang était quotidiennement examiné pour surprendre le début de l'affection, nous avons vu la mort survenir 3 jours après l'apparition des parasites dans le sang.

Trois fois ont été notées de véritables hémorragies intestinales ; l'animal expulsait chaque heure un caillot de sang gros comme un œuf de pigeon.

Le pronostic est fatal. Les trypanosomes sont toujours très nombreux dans le sang ; ils y sont très mobiles et traversent en flèche le champ d'observation.

A l'autopsie, les lésions sont très nettement marquées. Épanchement dans les séreuses, très abondant dans le péritoine et le péricarde, minime dans la plèvre; le liquide jaune citrin est quelquefois hémorragique; les hémorragies sous-muqueuses sont fréquentes dans le tube digestif, principalement dans l'estomac et le gros intestin ; le cœur est hypertrophié, le foie très congestionné, la rate volumineuse, se réduisant en bouillie sous le doigt après déchirement de la capsule ; congestion des méninges ; épanchement dans les ventricules;

2° Une *forme subaiguë*, assez fréquente chez les bœufs et les ânes, rare chez le cheval (2 cas), et dont la durée moyenne est d'un mois.

Symptômes principaux : fièvre irrégulière, larmoiement; jetage nasal, d'abord muqueux, puis purulent; amaigrissement, chute des poils par plaques, œdème des articulations des pattes postérieures; appétit conservé jusqu'au moment où l'animal se couche, généralement 36 heures avant la mort qui a lieu en hyperthermie.

Terminaison fatale dans 90 0/0 des cas. Parasite toujours présent dans le sang, très nombreux au moment de la mort.

A l'autopsie, épanchement jaune citrin dans les séreuses et les ventricules; hypertrophie de la rate très ramollie, congestion du foie et des méninges; cœur feuille morte et volumineux;

3° Une *forme chronique*, bien connue des indigènes, qui frappe les Bovidés, mais est surtout commune chez le cheval. Elle a été fort bien décrite par Cazalbou[1].

Terminaison fatale dans 60 0/0 des cas.

Des expériences sont en cours d'exécution pour savoir si les animaux guéris ont l'immunité.

Le parasite est très souvent présent dans le sang périphérique, mais il y est très rare et peu mobile.

Étude expérimentale. — Le sang d'environ trente Bovidés ou Équidés, présentant les différentes formes cliniques décrites ci-dessus, a été injecté à fortes doses sous la peau de *Cercopithecus ruber* et *callitrichus* (5 c. c.), dans la jugulaire de chiens (20 c. c.), de moutons et de chèvres (10 c. c.), dans le péritoine du cobaye (2 c. c.) et du porc (10 c. c. et plus); seuls le mouton et la chèvre se sont infectés.

Le porc en particulier est absolument réfractaire; 40 c. c. en 2 fois à 10 jours d'intervalle, d'un sang très parasité, n'ont rien donné. D'ailleurs, ces animaux vivent fort bien ici. Martin les a vus succomber en Haute Guinée à une trypanosomiase; mais il a reconnu qu'il s'agissait du *T. dimorphon*.

Nous avons constaté en revanche la sensibilité du porc au trypanosome que nous rapportons à *T. pecaudi*[2].

1. Cazalbou, *Revue générale de Médecine vétérinaire*, 1er et 15 septembre 1906.

2. Cette non-sensibilité du porc au *T. cazalboui* est surtout intéressante en raison de la place zoologique des Suidés. Dans une lettre datée de Bouaké (Côte d'Ivoire), 2 mai 1907, le docteur Bouet nous signale également que le sang d'un bœuf soudanais, renfermant des *T. cazalboui* et infectieux pour le chevreau, ne l'a été ni pour le rat, ni pour le chien, ni pour le singe, *ni pour le porc*. — Le docteur Bouet a de plus observé à la Côte d'Ivoire, chez des porcs, en particulier à Bouaké, un trypanosome ayant les caractères morphologiques du *T. pecaudi*. Ses observations corroborent donc celles du docteur Bouffard. — F. Mesnil.

Les mêmes formes cliniques de Souma observées dans l'infection naturelle se retrouvent dans l'infection expérimentale.

Chez les moutons, les races à laine du Macina et à grande taille du Sahel sont très sensibles; le petit mouton dit du Fouta-Djallon est très résistant. Nous en avons deux au laboratoire, infectés depuis six mois et en assez bon état; les parasites, constamment présents dans le sang pendant trois mois, ne se montrent actuellement qu'irrégulièrement.

La période d'incubation est de 7 jours environ.

L'*agent pathogène* est le *Tryp. cazalboui* Laveran [1]. Dans les formes septicémiques ou subaiguës qui caractérisent l'infection naturelle des Bovidés de la province de Bamako, les parasites sont toujours nombreux dans le sang, et pullulent à l'approche de la mort au point de pouvoir en compter cent par champ (ocul. 1, obj. 7, Stiassnie); ils sont très mobiles et quittent fréquemment le champ d'observation. Cette mobilité est bien moindre chez les Équidés. Cette différence très appréciable, qui nous faisait demander au début de nos recherches si nous avions bien affaire au même parasite, n'existe plus chez les animaux d'expérience, chez lesquels le parasite est toujours très mobile.

Les formes agiles sont étroites (1 μ à 1 μ 1/2); le déplacement lent caractérise les formes larges de 3 à 4 μ. La longueur varie de 18 à 25 μ.

Le parasite se conserve vivant sous la lamelle pendant 5 heures; dans le sérum de cheval, il est encore mobile après 24 heures, mais n'infecte plus le mouton.

A la description qu'en a faite le professeur Laveran, nous ajouterons que la largeur de l'extrémité postérieure est très variable, qu'elle est souvent renflée, donnant au parasite la forme d'un battant de cloche; sur des frottis obtenus avec du sang prélevé sur la conjonctive au niveau des pétéchies, nous avons observé des formes sphériques avec ou sans flagelle, probablement des formes de dégénérescence.

Étiologie. — D'après Cazalbou, les tsétsés doivent être mises hors de cause et il est vraisemblable que c'est par l'intermédiaire des taons et des stomoxes que le mal se transmet et s'entretient. Une circonstance favorable m'a permis d'aborder

1. LAVERAN, *C. R. Acad. Sciences*, 9 juillet 1906, et *Ann. Inst. Pasteur*, mai 1907.

le problème et m'a engagé à le soumettre à l'expérimentation.

Des bœufs malades amenés dans l'enceinte du laboratoire ont contaminé trois de mes génisses vaccinifères sur cinq ; or, ils ne portaient que des tiques, des hippobosques et des stomoxes ; ni taons ni tsétsés. J'ai donc pensé à instituer des expériences pour mettre en évidence le rôle des stomoxes et des hippobosques.

Une première expérience faite sur deux moutons isolés, qui furent piqués par des hippobosques et des stomoxes, ne m'a donné qu'un résultat négatif. J'ai reconnu depuis que l'échec devait tenir à ce que je m'étais servi d'une race de moutons à poil ras, dite du Beledougou, presque réfractaire à l'infection.

La race du Macina est au contraire très sensible, mais son épaisse toison gêne l'expérience.

J'ai donc résolu d'opérer avec des veaux, très sensibles aussi à la maladie ; et comme des renseignements reçus de divers points du Soudan me portaient à incriminer particulièrement les stomoxes, j'ai expérimenté avec ces seuls insectes.

Voici l'expérience qui m'a donné un résultat positif :

Mon virus est conservé par passage sur mouton. Je me suis assuré, par l'inoculation, non suivie d'effet, de 5 c. c. de sang virulent à un cobaye, à un singe et à un chien, que j'avais sûrement affaire à la Souma. Avec du sang d'un mouton à parasites nombreux, j'inocule sous la peau un veau de quinze mois (race sans bosse) que je sais indemne de trypanosomiase (l'injection de 20 c. c. de sang n'ayant rien donné à un mouton de la race très sensible du Macina).

Le 5e jour, les trypanosomes apparaissent dans le sang et y sont très nombreux le 8e jour.

Un second veau de même âge est surveillé depuis 25 jours ; il ne montre pas de parasites et 20 c. c. de son sang n'infectent pas un mouton du Macina. Il est isolé dans une écurie grillagée où ne pénètre aucun insecte. Il a été débarrassé de ses tiques.

Le premier veau malade, également débarrassé de ses tiques, est introduit dans cette écurie, suffisamment grande pour que les animaux soient éloignés de 1 mètre 1/2 et ne puissent se toucher.

J'y ai fait pénétrer 40 stomoxes, pris sur des animaux au pâturage. Evidemment, ces insectes peuvent être déjà infectés ; mais cette infection possible n'enlève rien, je crois, à la précision de l'expérience.

Le 1er jour, mis le matin à 10 heures ils ont paru piquer pendant toute l'après-midi (je les examinai à travers le grillage). Le lendemain, ils paraissaient avoir diminué de nombre : les nuits sont très fraîches et le refroidissement matinal a dû en tuer une partie. Au bout de 48 heures, il en reste

1. G. Bouffard. *C. R. Soc. Biologie*, t. LXII, 19 janvier 1907.

à peine une quinzaine. Le 3e jour, je n'en vois plus ; pénétrant de bon matin dans l'écurie, je ramasse à terre une dizaine de mouches mortes ; les autres se perdent sans doute dans la litière et les excréments des animaux.

Sachant le veau malade très parasité, je maintiens mes animaux isolés, pensant que les piqûres des deux après-midi ont pu suffire pour contaminer le veau sain.

Le veau inoculé meurt le 8e jour avec des parasites constants et nombreux dans le sang. Le 12e jour seulement, apparaissent les trypanosomes rares dans le sang du veau neuf. Ces parasites étaient non rares le lendemain et nombreux le 3e jour ; le veau est encore vivant le 8e jour de l'infection et les trypanosomes sont nombreux. Le jetage muco-purulent et le larmoiement sont, comme toujours, très nettement accusés.

L'expérience me semble probante et, le stomoxe étant ici extrêmement répandu, on s'explique facilement les ravages causés par la Souma dans les troupeaux [1].

Je vais maintenant étudier le rôle joué par les autres mouches piquantes, et en particulier les taons et les tsétsés. Mais il est probablement de médiocre importance dans la nature, si on le compare à celui des stomoxes. J'ai reçu en effet plusieurs envois de mouches provenant des postes de la boucle du Niger où une mortalité excessive se manifeste chez les bœufs et les chevaux : pas un seul taon, ni une seule tsétsé, beaucoup de stomoxes et d'hippobosques.

La *Glossina palpalis*, la seule glossine rencontrée jusqu'à ce jour, est assez rare sur le Niger, de Siguiri à Koulikoro, mais se voit en grand nombre sur les affluents de ce fleuve. Sur un veau attaché au bord de la rivière, on peut aisément en capturer une quinzaine en deux heures. La mouche paraît ici ne jamais quitter le lit du fleuve ou du cours d'eau ; on ne la rencontre point dans la brousse.

Traitement. — Les couleurs de benzidine de Mesnil et Nicolle, et l'atoxyl font disparaître assez rapidement les parasites du sang ; nous n'avons pas encore obtenu de guérison certaine. Nos recherches continuent.

La seule prophylaxie qui donnerait un résultat immédiat est l'abatage des animaux malades qui, par leur sang toujours parasité, sont une cause d'infection facile pour les animaux sains du même troupeau et pour les troupeaux voisins.

On ne peut songer à s'attaquer aux mouches piquantes.

1. La description de ces stomoxes, d'espèce nouvelle a été faite à la *Soc. entomologique*, par M. F. Picard, (*Bull. Soc. entomologique*, 1907.)

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE AOUT 1907. No 8

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Sur le rôle de la rate dans les trypanosomiases

PAR MM. A. LAVERAN ET A. THIROUX

Le rôle de la rate dans les maladies microbiennes, bien qu'il ait été l'objet d'un grand nombre de travaux, n'est pas encore élucidé.

Pour les uns, la rate favorise la conservation des germes pathogènes dans l'organisme; pour les autres, la rate a un rôle de protection dû soit à ses propriétés phagocytaires, soit à la sécrétion d'une substance microbicide.

Des expériences souvent contradictoires ont été publiées: avant d'essayer d'établir une théorie générale, il est indispensable d'étudier le rôle de la rate dans chaque maladie microbienne en particulier.

L'un de nous a discuté le rôle de la rate dans le paludisme et il est arrivé à conclure que, dans cette infection, la rate n'avait pas un rôle spécial de défense.

Si la phagocytose paraît plus active dans la rate palustre que dans d'autres organes, cela tient à ce que les éléments pigmentés en suspension dans le sang tendent à s'y accumuler.

« Les hématozoaires peuvent vivre dans la rate pendant longtemps à l'état latent; la rate est leur siège d'élection et c'est pour cela qu'elle présente, chez les palustres, des altérations constantes et souvent profondes [1]. »

Contrairement à ce qui devrait arriver si la rate avait, dans le paludisme, un rôle de défense, l'infection n'augmente pas de gravité à la suite de la splénectomie; au contraire, si bien que Jonnesco a été conduit à proposer cette opération comme traitement préventif de la cachexie palustre.

1. A. LAVERAN, *Traité du paludisme*, 2e édit., Paris, 1907, p. 396.

Dans une autre maladie produite par des Protozoaires, dans le kala-azar, il paraît évident que la rate est un des sièges d'élection des parasites. L'hypersplénie est un des caractères les plus constants de l'infection et c'est en ponctionnant la rate qu'on arrive à constater l'existence des *Piroplasma Donovani*.

Dans les trypanosomiases, comme dans le paludisme et dans le kala-azar, l'hypersplénie est une des lésions les plus constantes; il était donc indiqué de rechercher quel était le rôle de la rate dans ces infections. Cette étude a été entreprise déjà par plusieurs observateurs.

Bradford et Plimmer signalent que des animaux dératés avant d'être inoculés de *Tr. Brucei* sont morts plus vite que les témoins, ce qui rend probable, disent ces observateurs, une phagocytose active de la rate [1].

E. Sauerbeck constate aussi que chez des rats et chez un chien dératés, et inoculés ensuite de *Tr. Brucei*, l'infection a évolué un peu plus rapidement que chez les animaux normaux. De plus Sauerbeck insiste sur ce fait que, après la mort des animaux infectés de trypanosomes, les parasites subissent des altérations profondes qui se produisent plus rapidement dans la rate que dans d'autres organes, dans le foie notamment; dans les frottis frais de rate, il serait très rare de trouver des trypanosomes intacts [2].

D'après Rodet et Vallet, la rate aurait des propriétés trypanolytiques remarquables. Lorsqu'on examine la pulpe de la rate d'un animal mort de trypanosomiase, on ne voit pas, disent ces observateurs, de trypanosomes ayant l'aspect normal, alors même que cet examen est fait aussitôt après les derniers instants de la vie ; on n'aperçoit, sur les frottis de rate, que les noyaux des trypanosomes sans les flagelles [3]. « Les trypanosomes sont dans la rate l'objet d'une destruction, et suivant un mode un peu spécial, en ce sens que jamais, à côté des noyaux, nous ne trouvons de flagelles libres, contrairement à ce qui se passe pour la désintégration habituelle dans le sang [4]. »

1. J.-R. Bradford et H.-G. Plimmer, *The quarterly Journ. of microsc. sc.*, février 1902, t. XLV, part. 3.
2. E. Sauerbeck, *Zeitschr. für Hygiene u. Infectionskrank.*, 1906, t. LII, fasc. 1.
3. A. Rodet et G. Vallet. *Acad. des Sciences*, 28 mai 1906, et *Arch. de méd. expérim. et d'anat. pathol.*, juillet 1906.
4. *Arch. de méd. expérim. et d'anat. pathol.*, juillet 1906, p. 468.

Le pouvoir trypanolytique de l'extrait de rate aurait été constaté *in vitro* par ces observateurs.

Les ganglions lymphatiques seraient aussi des foyers de destruction des trypanosomes.

G. Roux et L. Lacomme, s'appuyant sur les recherches de Rodet et Vallet, ont tenté d'utiliser la prétendue propriété trypanolytique de la rate dans le traitement des trypanosomiases; ils ont annoncé qu'ils avaient vu les trypanosomes du Nagana disparaître temporairement chez trois chiens auxquels ils avaient injecté des extraits de rate de bœuf[1].

Ainsi que Rodet et Vallet l'ont fait remarquer, ces disparitions momentanées des parasites chez des chiens infectés de Nagana peuvent s'expliquer par la marche naturelle de l'infection qui comporte de semblables crises trypanolytiques[2].

Nous avons fait, sur le rôle de la rate dans les trypanosomiases, une série de recherches qui peuvent se résumer sous les trois chefs suivants : 1° état des trypanosomes dans la rate; 2° action *in vitro* de l'extrait de rate sur les trypanosomes ; 3° évolution des trypanosomiases chez les animaux dératés[3].

1° État des trypanosomes dans la rate. — Il est exact, comme l'ont dit Sauerbeck, Rodet et Vallet, que si l'on fait des frottis avec la rate et avec le foie d'un animal mort de trypanosomiase, on constate, le plus souvent, de grandes différences entre ces frottis au point de vue du nombre et de l'état de conservation des trypanosomes; les parasites sont plus rares et plus altérés dans les frottis de la rate que dans ceux du foie, mais il y a des causes d'erreur.

Les trypanosomes se trouvent dans le sang et non dans les parenchymes; il est donc naturel qu'ils existent en nombre d'autant plus grand dans les frottis d'organes que ces frottis contiennent plus de sang. Or, dans les frottis de foie, il y a presque toujours plus de sang que dans les frottis de rate ; après la mort, les vaisseaux de la rate se rétractent, tandis que ceux du foie restent béants; en outre le parenchyme ramolli de la rate laisse dans les frottis un grand nombre de cellules du parenchyme splénique, alors que, dans les frottis du foie, on

1. G. Roux et L. Lacomme, *Acad. des Sciences*, 9 juillet 1906.
2. A. Rodet et G. Vallet, *Acad. des Sciences*, 6 août 1906.
3. Les principaux résultats de ces recherches ont été communiqués à l'Académie des Sciences le 1er juillet 1907.

ne trouve pour ainsi dire que des hématies. Sur les préparations colorées au Giemsa, cette différence est apparente même à l'œil nu; le frottis de foie prend une coloration rosée ou violacée comme le sang, le frottis de rate prend une coloration bleuâtre.

La fixation des trypanosomes par dessiccation, qui se fait bien quand les trypanosomes sont dans le sang, laisse beaucoup à désirer quand il s'agit de frottis dans lesquels d'autres éléments que les hématies dominent. Les trypanosomes se déforment.

Si l'on sacrifie un animal qui est fortement infecté de trypanosomes et si l'on fait, de 5 en 5 minutes, des frottis avec un même morceau de la rate, on constate que les premiers frottis se font facilement, parce que la rate contient encore du sang en assez grande quantité, mais que bientôt la coupe de la rate devient sèche, exsangue. Après coloration, on voit dans les premiers frottis des trypanosomes nombreux et bien conservés, tandis que dans les suivants, les parasites deviennent de plus en plus rares et qu'ils paraissent de plus en plus altérés.

Au lieu de faire des frottis avec le parenchyme splénique, il vaut mieux piquer la rate avec une pipette effilée et retirer une goutte de liquide qui sert à faire un frottis. Si l'on procède ainsi, aussitôt après la mort d'un animal infecté de trypanosomiase, on constate que les trypanosomes sont aussi nombreux dans la rate que partout ailleurs et qu'ils s'y trouvent avec leur aspect ordinaire. Rodet et Vallet eux-mêmes disent d'ailleurs qu'ils n'ont pas trouvé de différences, au point de vue du nombre et de l'aspect des trypanosomes, entre le sang des veines spléniques et celui de l'artère splénique, chez les animaux infectés par *Tr. Brucei*.

Dans les frottis de rate, les trypanosomes se colorent moins facilement que dans le sang. Nous avons constaté plusieurs fois le fait suivant : dans un frottis de rate coloré au Giemsa, on ne voit pas les flagelles des trypanosomes ; dans un autre frottis fait en même temps que le premier, mais traité par l'azobleu avant d'être coloré au Giemsa, les flagelles sont très apparents ; après la coloration au Giemsa seul, on aurait pu conclure que les flagelles avaient disparu, alors qu'ils étaient devenus seulement plus difficiles à colorer.

Parmi les nombreuses observations que nous avons recueillies relativement à l'état des parasites dans la rate, chez les animaux infectés de trypanosomiase, nous citerons seulement les trois suivantes.

Observation I. — Un cobaye est inoculé le 30 mars 1907 avec un trypanosome provenant du Togo (virus fort de Martini).

Le 25 avril, les trypanosomes sont assez nombreux dans le sang du cobaye; le 27, ils sont très nombreux.

Le 27 avril, le cobaye est sacrifié et l'on procède aussitôt après la mort à l'examen des viscères. La rate est fortement hypertrophiée.

A l'aide d'une pipette on ponctionne la rate, et on fait des frottis avec le liquide qui a pénétré dans la pipette. Ces frottis se colorent en rose (au Giemsa) comme le sang lui-même et l'examen histologique montre des trypanosomes nombreux et en bon état au milieu des hématies (1, fig. I).

Frottis de rate faits aussitôt après l'ablation de ce viscère. Les frottis

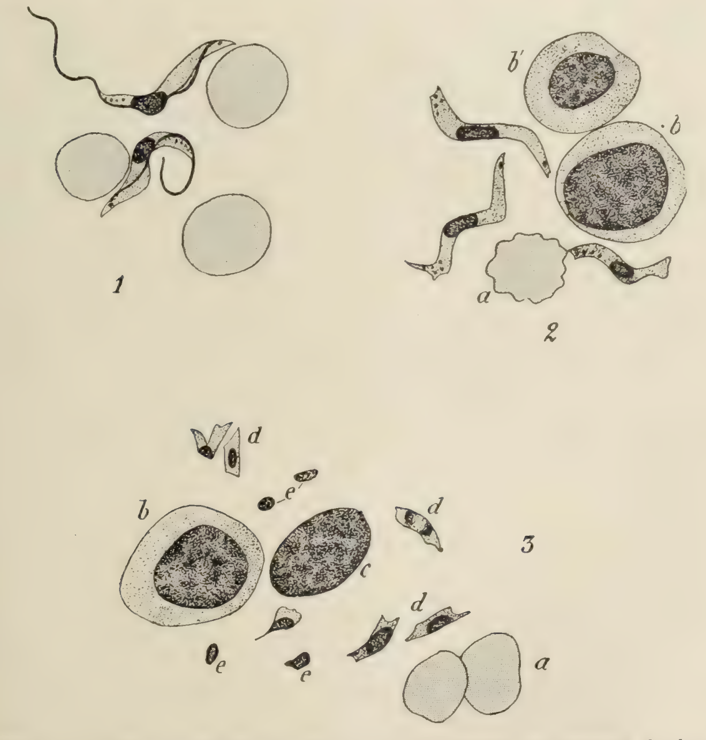


Fig. I. — 1. Sang pris dans la rate avec une pipette au moment de la mort; 2 trypanosomes d'aspect normal. — 2. Frottis de rate fait 5 minutes après l'ablation de ce viscère. 3 trypanosomes déformés. *a*, une hématie crénelée; *b*, *b'*, éléments de la rate. — 3. Frottis de rate, 15 minutes après l'ablation de ce viscère. *a*, deux hématies; *b*, élément de la rate; *c*, un noyau libre; *d*, *d*, *d*, trypanosomes déformés; *e*, *e*, *e*, noyaux de trypanosomes. — Gross. 1350 D.

colorés au Giemsa ont une teinte bleuâtre. Au milieu des hématies et des éléments propres de la rate, on distingue des trypanosomes nombreux d'aspect normal ou légèrement déformés.

Frottis de rate faits 5 minutes après l'ablation. Trypanosomes encore bien reconnaissables, moins nombreux que dans les frottis faits aussitôt après l'ablation, pâles et souvent déformés (2, fig. I).

Frottis de rate faits 10 minutes après l'ablation de ce viscère. Les frottis colorés au Giemsa ont une teinte bleue bien différente de la teinte rosée des préparations de sang. Cette teinte s'explique par ce fait que les éléments propres de la rate dominent de beaucoup dans les frottis. Trypanosomes assez rares, souvent déformés.

Frottis de rate faits 15 minutes après l'ablation de ce viscère. Les frottis ont une teinte bleue après coloration au Giemsa. On trouve difficilement quelques trypanosomes fortement altérés, parfois réduits au noyau (3, fig. I).

Frottis de foie fait au moment de la mort. La préparation, colorée au Giemsa, a une teinte rosée comparable à celle des préparations de sang et, de fait, le frottis est constitué presque uniquement par des hématies au milieu desquelles on voit des trypanosomes nombreux, d'aspect normal.

Frottis fait 5 minutes après l'ablation d'un morceau du foie. Même aspect que dans le frottis fait au moment de la mort.

Frottis de foie fait 10 minutes après l'ablation. Hématies toujours nombreuses, cellules hépatiques moins rares que dans les premiers frottis, trypanosomes moins nombreux, parfois déformés.

Frottis de foie fait 15 minutes après l'ablation. Le nombre des trypanosomes a encore diminué; les parasites sont souvent déformés.

Observation II. — Un cobaye est inoculé le 14 avril 1907 avec un trypanosome du Togo (virus fort de Martini).

Le 4 mai, les trypanosomes sont nombreux dans le sang du cobaye qui est sacrifié.

Sang recueilli dans la rate avec une pipette aussitôt après la mort. Dans les frottis faits avec le sang de la rate, les trypanosomes ont l'aspect normal (1, fig. II), ils ne se distinguent en rien des trypanosomes du sang pris dans le cœur.

Frottis de rate faits de 5 à 30 minutes après l'ablation de ce viscère. Les trypanosomes sont plus ou moins déformés, les flagelles ne se colorent plus (2, fig. II).

Frottis de rate faits 45 minutes après l'ablation de ce viscère. Les trypanosomes sont déformés, on ne distingue souvent que les noyaux (3, fig. II). En colorant par le Giemsa seul, on ne voit plus de flagelles, mais en traitant par l'azobleu avant de faire agir le Giemsa, on voit apparaître un certain nombre de trypanosomes d'aspect à peu près normal (4, fig. II); sur les préparations ainsi colorées les noyaux nus deviennent rares.

Frottis de foie. Ces frottis contiennent beaucoup plus de sang que les frottis de rate, aussi prennent-ils, après coloration au Giemsa, une teinte rosée ou lilas, alors que les frottis de rate ont une teinte bleue. On y trouve des trypanosomes d'aspect normal; cependant, dans les frottis faits 30 à 45 mi-

nutes après la mort, le nombre des trypanosomes diminue et il n'est pas rare de rencontrer des parasites déformés.

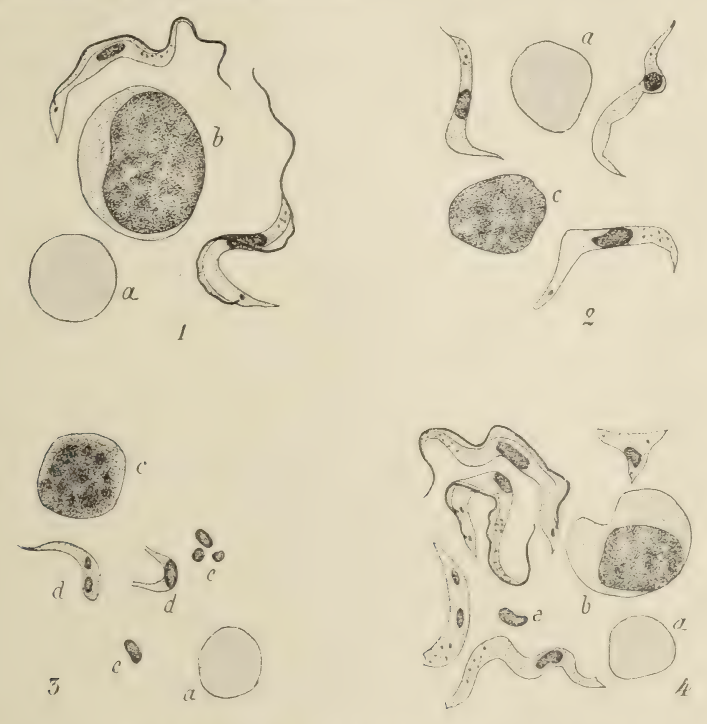


Fig. II. — 1. Sang pris dans la rate à la pipette aussitôt après la mort. 2 trypanosomes d'aspect normal. *a*, une hématie. *b*. un leucocyte mononucléaire. — 2. Frottis de rate 15 minutes après la mort. 3 trypanosomes déformés. *a*. une hématie. *c*. un noyau de leucocyte isolé. — 3. Frottis de rate 45 minutes après la mort, coloration au Giemsa. *a*, une hématie. *c*. un noyau de leucocyte altéré. *d*, *d*. trypanosomes altérés. *e*. *e*. noyaux nus de trypanosomes. — 4. Frottis de rate 45 minutes après la mort. coloration par l'azobleu et le Giemsa. *a*. une hématie. *b*, leucocyte mononucléaire. *e*, noyau nu d'un trypanosome. On voit en outre deux trypanosomes d'aspect normal et deux trypanosomes déformés. Gross. 1350 D.

Observation III. — Une chienne inoculée le 6 mai 1907 avec *Tr. Pecaudi* meurt le 24 mai. L'autopsie est pratiquée aussitôt après la mort. Le cadavre pèse 5kg,100. La rate pèse 28 grammes, elle n'est pas ramollie.

Sang du cœur: trypanosomes nombreux, d'aspect normal; les grandes formes dominent.

Sang pris dans la rate à la pipette aussitôt après la mort: trypanosome nombreux, d'aspect normal, se colorant bien. Il y a peu d'éléments de la rate dans les préparations.

Frottis de rate faits 15 minutes après l'ablation de ce viscère. Trypanosomes nombreux, bien conservés, se colorant par le Giemsa, à l'exception du flagelle qui reste pâle ou incolore. Inclusions assez nombreuses de trypanosomes dans des leucocytes ou dans des éléments de la rate.

Frottis de rate faits 30 minutes après l'ablation. Trypanosomes toujours très reconnaissables mais les parasites déformés deviennent plus nombreux et les noyaux nus ne sont pas rares.

Frottis de rate faits 45 minutes après l'ablation. On ne trouve plus que des trypanosomes déformés ; les noyaux nus prédominent.

Frottis de rate faits 1 heure après l'ablation. On ne voit plus que des noyaux nus de trypanosomes ; il n'y a presque plus d'hématies dans les frottis.

Frottis de foie faits 15 minutes après la mort. Trypanosomes nombreux, d'aspect normal, se colorant comme dans le sang.

Frottis de foie faits 30 minutes après la mort. Trypanosomes sans flagelles apparents (coloration au Giemsa) ; noyaux nus assez nombreux.

Frottis de foie faits 45 minutes après la mort. L'aspect des trypanosomes est le même que dans les frottis faits 30 minutes après la mort.

Frottis de moelle osseuse faits aussitôt après la mort. Beaucoup de trypanosomes ont l'aspect normal, quelques-uns sont déformés. Inclusions non rares.

Frottis de moelle osseuse faits 15 minutes après la mort. Les flagelles des trypanosomes se colorent mal.

Frottis de moelle faits 30 minutes après la mort. Beaucoup de trypanosomes sont déformés ; on rencontre quelques noyaux nus.

Frottis de moelle osseuse faits 1 heure après la mort. Les trypanosomes ayant encore un aspect à peu près normal sont rares, les noyaux nus prédominent.

Le fait que les inclusions de trypanosomes s'observent plus souvent dans les frottis de rate ou de moelle osseuse que dans les frottis de sang ou de foie s'explique facilement, puisque les phagocytes, très nombreux dans les premiers frottis, sont relativement rares dans les seconds.

Dans les frottis de moelle osseuse ou de ganglions lymphatiques faits aussitôt après la mort, on trouve, comme dans les frottis de rate faits dans les mêmes conditions, des trypanosomes d'aspect normal ;

2° Action « in vitro » de l'extrait de rate sur les trypanosomes. — On a vu plus haut que, d'après Rodet et Vallet, l'extrait de rate posséderait *in vitro* une action trypanolytique. Les expériences qui suivent ont été entreprises pour vérifier ce fait.

Expérience I. — Le 28 mai 1907, on saigne un cobaye neuf ; des morceaux de rate et de foie de même poids sont broyés dans des verres stérilisés ; on ajoute, dans chacun des verres, 2 c. c. d'eau physiologique à 7 pour 1000, on broie de nouveau et on filtre sur papier.

On fait les mélanges suivants dans des verres de montre flambés, en se servant du sang d'un cobaye fortement infecté de *Tr. Evansi* :

a) Une goutte de sang et une goutte d'extrait de rate ;

b) Une goutte de sang et une goutte d'extrait de foie ;

c) Une goutte de sang et une goutte d'eau physiologique.

On mélange bien les gouttes dans les trois verres de montre et on défibrine en agitant avec la pointe effilée d'une pipette.

On fait alors avec les liquides *a*, *b* et *c* des préparations en goutte pendante qui sont examinées toutes les demi-heures au début, puis à intervalles plus éloignés.

3 heures après le début de l'expérience, les trypanosomes sont encore très mobiles dans les trois préparations.

Après 24 heures, on trouve dans les trois préparations des trypanosomes mobiles; les mouvements sont très ralentis, mais ils le sont également dans les trois préparations.

Après 48 heures, on trouve encore, dans la préparation faite avec l'extrait de rate, quelques trypanosomes très faiblement mobiles, alors qu'on ne voit plus aucun trypanosome mobile dans les deux autres préparations.

Expérience II. — On saigne un cobaye neuf : on extrait la rate et on prélève un morceau de foie du même poids. La rate et le morceau de foie sont broyés dans des verres stérilisés; on ajoute, dans chacun des verres, 5 c. c. d'eau physiologique à 7 p. 1000 et l'on filtre sur papier.

On prépare alors, dans des verres de montre flambés, les mélanges suivants en se servant du sang d'un cobaye infecté de Surra :

a) Une goutte de sang et une goutte d'extrait de rate ;

b) Une goutte de sang et une goutte d'extrait de foie ;

c) Une goutte de sang et une goutte de l'eau physiologique qui a servi à faire les extraits.

On défibrine en agitant les mélanges avec la pointe d'une pipette très effilée et avec chacun des mélanges on fait une préparation en goutte pendante. L'examen est pratiqué au début toutes les demi-heures, puis à intervalles plus éloignés.

Après 2 h. 30 minutes, on n'observe aucun changement appréciable dans l'aspect des trypanosomes ; la mobilité des parasites est la même dans les trois préparations.

Après 18 heures, les trypanosomes sont bien conservés dans le mélange *a* : ils sont encore mobiles, les mouvements sont seulement ralentis. Il en est de même pour les trypanosomes des mélanges *b* et *c*.

Après 24 heures, il y a encore des trypanosomes mobiles dans les trois préparations, mais le nombre des parasites a diminué.

Après 42 heures, on voit encore dans les mélanges *a* et *b* des trypanosomes très rares, très faiblement mobiles. Dans le mélange *c*, il n'y a plus que des trypanosomes très déformés, immobiles.

A partir de ce moment, les derniers parasites s'immobilisent dans les mélanges *a* et *b*.

Expérience III. — Cette expérience est instituée dans le but de rechercher l'influence que peut avoir la coagulation du sang mélangé à des extraits d'organes et aussi l'influence du mode d'examen en goutte pendante ou entre lame et lamelle.

On saigne un cobaye neuf et on prépare des extraits de rate et de foie

	1 goutte extrait de rate. 1 goutte de sang.		1 goutte extrait de rate. 1 goutte de sang. 2 gouttes eau citratée.	1 goutte extrai de foie. 1 goutte de sang
	En goutte pendante.	Entre lame et lamelle.	Entre lame et lamelle.	En goutte pendante
Après 30 minutes.	Trypan. bien mobiles.	Trypan. bien mobiles.	Trypan. très mobiles. Liquide plus dilué.	Trypan. bie mobiles.
Après 1 heure..	Trypan. un peu moins mobiles.	Trypan. un peu moins mobiles.	Trypan. encore bien mobiles.	Id.
Après 1 h. 30′..	Trypan. à mouvements très ralentis.	Trypan. rares, à mouvements très ralentis.	Trypan. à motilité faiblement diminuée.	Trypan. moir nombreux, moins mobile
Après 2 heures..	Trypan. rares. faiblement mobiles.	Trypan. très rares, très faiblement mobiles.	Trypan. encore nombreux. Motilité seulement diminuée.	Trypanosome encore mobiles.
Après 2 h. 30′...	Id.	Id.	Trypan. rares, faiblement mobiles, souvent déformés.	Id.
Après 20 heures.	Trypan. très rares, à mouvements très lents, déformés.	Trypan. très rares, à mouvements très lents, déformés.	On voit encore 2 trypan. mais immobiles.	Trypan. rare encore u peu mobiles.
Après 26 heures.	Id.	Id.	0 Trypan.	Trypan. trè rares, déformés en boule, mouvements très lents.
Après 44 heures.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.	Id.
Après 48 heures.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.

1 goutte extrait de foie. 1 goutte de sang.	1 goutte extrait de foie. 1 goutte de sang. 2 gouttes eau citratée.	1 goutte eau physiologique 7 0 00 1 goutte de sang.		1 goutte eau citratée. 1 goutte de sang.
Entre lame et lamelle.	Entre lame et lamelle.	En goutte pendante.	Entre lame et lamelle.	Entre lame et lamelle.
Trypan. bien mobiles.	Trypan. bien mobiles.	Trypan. à mouvements ralentis.	Trypan. rares, à mouvements ralentis.	Trypan. à mouvements ralentis.
Id.	Id.	Trypan. à mouvements très ralentis.	Trypan. rares, à mouvements très ralentis.	Trypan. à mouvements très ralentis.
Trypan. moins nombreux, encore bien mobiles.	Trypan. moins nombreux, encore bien mobiles.	Trypan. très rares, très faiblement mobiles.	Trypan. très rares, à mouvements très lents.	Trypan. très rares, à mouvements très lents.
Trypan. encore bien mobiles.	Trypan. encore bien mobiles. Mouvements un peu ralentis.	Trypan. excessivement rares, à mouvements très lents.	Trypan. très rares, à mouvements très lents.	Trypan. presque tous immobilisés.
Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Trypan. très rares, très faiblement mobiles.	Trypan. très rares, très faiblement mobiles.	Id.	Id.	0 Trypan.
Id.	Id.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.
0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.
0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.	0 Trypan.

en suivant la même technique que dans les expériences I et II, on prépare ensuite les mélanges suivants avec du sang de cobaye infecté de Surra ; ces mélanges ne sont pas défibrinés :

a) Une goutte de sang et une goutte d'extrait de rate ;

b) Une goutte de sang et une goutte d'extrait de foie ;

c) Une goutte de sang et une goutte d'eau physiologique.

Avec ces différents mélanges, on fait des préparations en goutte pendante et des préparations ordinaires entre lame et lamelle, on fait aussi des préparations après addition aux mélanges de 2 gouttes d'eau citratée.

Le tableau qui précède résume les résultats obtenus.

La comparaison des résultats de cette expérience avec ceux des expériences I et II montre que les mouvements des trypanosomes se ralentissent plus vite dans les milieux non défibrinés que dans les milieux défibrinés. Les mouvements des trypanosomes (expérience III) se sont ralentis plus vite dans les préparations du mélange sang + extrait de rate, que dans celles du mélange sang + extrait de foie, mais c'est dans les préparations sang + eau physiologique qu'ils ont disparu le plus rapidement. Devant ce résultat, il paraît inutile de faire intervenir des propriétés trypanolytiques de l'extrait de rate pour expliquer le ralentissement des mouvements des trypanosomes dans le mélange sang + extrait de rate.

Afin de nous rendre compte de l'influence de la densité des liquides sur la conservation des trypanosomes, nous avons expérimenté avec trois solutions de chlorure de sodium chimiquement pur que O. Gœbel a indiquées comme permettant une survie plus ou moins prolongée des trypanosomes [1]. Ces solutions sont faites aux titres de 5^{gr},85, 11^{gr},75 et 17^{gr},50 de Na Cl par litre d'eau distillée. On mélange une goutte de sang riche en trypanosomes et une goutte de chacune des solutions, sans défibriner, et on examine au microscope.

Au bout de 30 minutes, la mobilité des trypanosomes est la même dans les trois préparations. A partir de ce moment, la mobilité diminue dans les trois préparations ; c'est dans la préparation faite avec la solution de chlorure de sodium à 17,5 p. 1000 que les trypanosomes se conservent le mieux et gardent le plus longtemps leur mobilité. Au bout de 3 heures, les préparations sont à peu près au même point, on n'y rencontre que des trypanosomes rares à mouvements très lents.

1. Oswald Gœbel, Sur les propriétés osmotiques des trypanosomes, *Ann. de la Soc. de Médecine de Gand*, 1906, t. LXXXVI, p. 11.

Au bout de 20 heures, on trouve des trypanosomes, très rares et à mouvements très lents, dans toutes les préparations ; au bout de quarante-quatre heures, on en rencontre encore quelques-uns.

En résumé, le plus grand nombre des trypanosomes qui se trouvent dans une goutte de sang s'immobilisent au bout de 2 à 5 heures quand on mélange le sang à une solution de chlorure de sodium de 6 à 17 p. 1000; un petit nombre restent encore mobiles après un laps de temps qui peut atteindre 48 heures. Les choses se passent de même quand on ajoute à l'eau salée des extraits de foie ou de rate qui, par eux-mêmes, n'ont pas d'action trypanolytique :

3° Évolution des trypanosomiases sur des animaux dératés. — D'après les recherches de Bradford et Plimmer et de E. Sauerbeck, déjà citées, l'évolution du Nagana est un peu plus rapide chez les animaux dératés (lapins, chiens, chats, rats) que chez les animaux normaux.

En 1904, l'un de nous constatait avec M. Mesnil qu'un rat dératé inoculé de Nagana s'était comporté exactement comme un rat témoin [1].

Nos expériences ont porté sur 5 cobayes et sur 2 rats. Nous donnons ci-dessous les observations de 3 cobayes et des deux rats, avec celles des témoins. Des tracés indiquent, pour chaque expérience, les variations observées dans le nombre des trypanosomes chez les animaux dératés et chez les témoins.

Expérience I. — A. Un cobaye du poids de 285 grammes est dératé le 28 avril 1907. Le 7 mai, le cobaye, qui est guéri de l'opération, est inoculé de Surra [2] sous la peau.

Le 13 mai, on trouve dans le sang du cobaye des trypanosomes très rares.

14 et 15 mai, trypanosomes assez nombreux. — 16, nombreux. — 17, assez nombreux.

18 et 19 mai, l'examen du sang est négatif.

20 mai, trypanosomes assez nombreux. — Du 24 au 27, les trypanosomes sont très nombreux. L'examen de plusieurs préparations de sang desséché et coloré ne révèle pas l'existence d'inclusions des trypanosomes dans les leucocytes.

Le 28 mai, le cobaye est trouvé mort.

Autopsie. La plaie abdominale est bien cicatrisée. Il n'y a pas de péri-

1. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et trypanosomiases*, 1904, p. 118.
2. Le virus qui a servi pour toutes ces expériences est le virus du Surra de Maurice.

tonite. La rate a été complètement enlevée. Au moment de l'autopsie, faite plusieurs heures après la mort, le sang est déjà en partie coagulé dans le cœur, on ne trouve plus dans les organes, comme dans le sang, que des trypanosomes en mauvais état.

B. Un cobaye témoin, du poids de 555 grammes, est inoculé de Surra le 7 mai sous la peau; il reçoit la même quantité de virus que le cobaye dératé.

16 mai, trypanosomes très rares. — 17 mai, rares. — Du 18 au 20 mai, très rares. — 21 et 22 mai, nombreux. — 25, rares.

Mort le 25 mai.

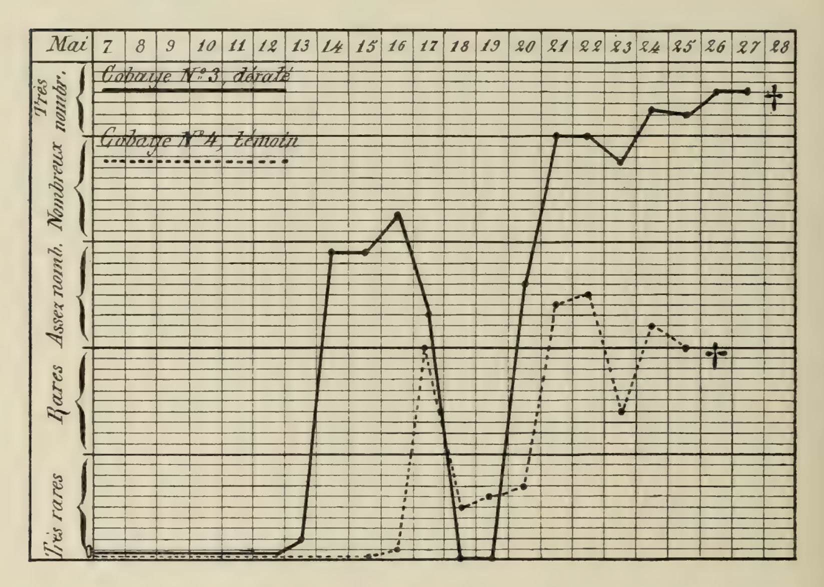


Figure III. — Les tracés de la figure III donnent, pour le cobaye dératé et pour le témoin, les variations observées dans le nombre des trypanosomes. Il est à noter que la crise trypanolytique s'est mieux faite (18 et 19 mai) chez le cobaye dératé que chez le témoin.

Autopsie faite immédiatement après la mort. Hémorragie intrapéritonéale abondante. La rate pèse 6 grammes, elle est très friable; il existe une déchirure de la rate qui a été le point de départ de l'hémorragie et qui a dû hâter la mort.

Expérience II. — A. Un cobaye du poids de 510 grammes est dératé le 10 mai 1907. Le 21 mai, le cobaye qui est guéri de l'opération est inoculé de Surra sous la peau.

Le 27 mai, on trouve dans le sang du cobaye des trypanosomes très rares. Du 28 au 31 mai, trypanosomes nombreux. — 1er juin, assez nombreux. — Du 2 au 3 juin, l'examen du sang est négatif. — 4 juin, trypanosomes rares. — 5 juin, nombreux. — 9 juin, très nombreux; dans une préparation de sang desséché et coloré, on trouve, au cours d'un examen qui a duré

15 minutes, une seule inclusion de trypanosome (noyau) dans un leucocyte. — 7 juin, trypanosomes très nombreux.

Mort le 7 juin.

Autopsie faite quelques heures après la mort. La plaie abdominale est bien cicatrisée. Il n'y a pas de péritonite. La rate a été complètement enlevée.

Les ganglions inguinaux du côté gauche sont légèrement hypertrophiés. Il n'y a plus de trypanosomes mobiles dans le sang.

B. Un cobaye témoin, du poids de 365 grammes, est inoculé sous la peau le 21 mai avec le même virus que le cobaye dératé; les deux animaux reçoivent les mêmes quantités de virus.

27 et 28 mai, trypanosomes assez nombreux dans le sang du cobaye. — 29 et 30, très nombreux.

Mort le 30 mai.

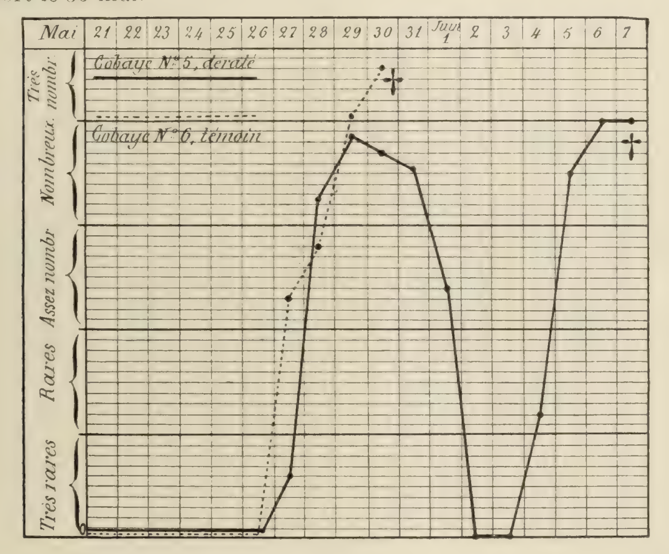


FIGURE IV. — Les tracés de la figure IV donnent pour le cobaye dératé et pour le témoin les variations observées dans le nombre des trypanosomes. Il est à noter que la crise trypanolytique s'est bien faite chez le cobaye dératé (les 2 et 3 juin) : chez le témoin, la rapidité de l'évolution de l'infection n'a pas laissé à cette crise le temps de se produire.

Autopsie faite immédiatement après la mort. La rate est très volumineuse. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés. La moelle osseuse est rouge, hyperémiée; dans les frottis faits aussitôt après la mort on trouve de nombreux trypanosomes bien conservés et des inclusions non rares.

EXPÉRIENCE III. — A. Un cobaye du poids de 395 grammes est dératé le 10 mai 1907. Le 21 mai, le cobaye, qui est guéri de l'opération, est inoculé de Surra sous la peau.

Le 28 mai, on trouve dans le sang du cobaye des trypanosomes très rares. — 29 et 30 mai, trypanosomes assez nombreux. — 31 mai, nombreux.

— 1er juin, nombreux. — 2 juin, rares. — 3 juin, très rares. — Le 4 juin, l'examen du sang est négatif. — 5 juin, trypanosomes très rares. — 6 juin, nombreux. — 7 et 8 juin, très nombreux. — 9 juin, assez nombreux. — 10 et 11, très nombreux.

Dans une préparation de sang du 10 mai, on trouve deux inclusions de trypanosomes dans des leucocytes au cours d'un examen de 15 minutes.

Mort le 11 juin à 5 heures du soir.

Autopsie faite aussitôt après la mort. La plaie abdominale est bien cicatrisée. Pas de péritonite. La rate a été complètement enlevée. Ganglions inguinaux un peu augmentés de volume.

La moelle osseuse est rouge et paraît congestionnée. Dans les frottis de moelle osseuse il y a beaucoup d'hématies ; les trypanosomes sont nombreux et en bon état, ils se colorent assez bien.

B. Un cobaye témoin, du poids de 425 grammes, est inoculé le 21 mai sous la peau avec le même virus que le cobaye dératé ; les deux cobayes reçoivent la même quantité de virus.

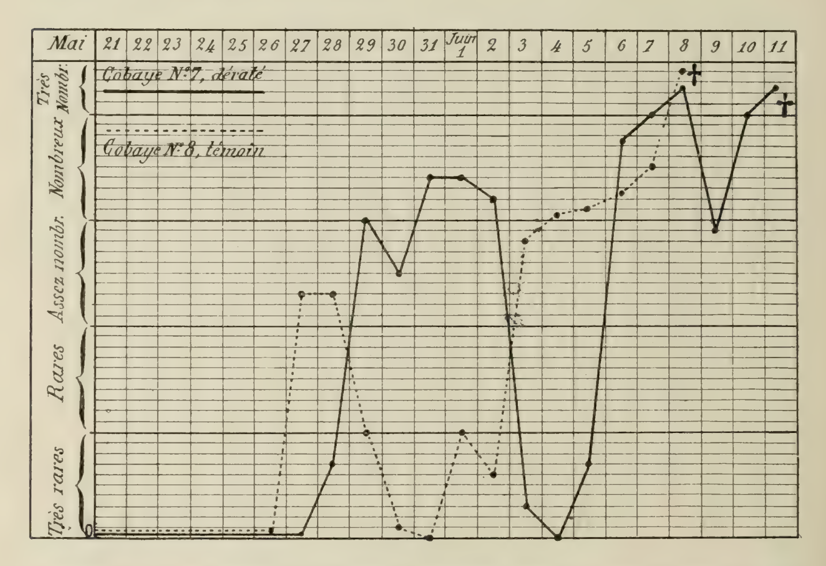


FIGURE V. — Les tracés de la figure V donnent, pour le cobaye dératé et pour le témoin, les variations observées dans le nombre des trypanosomes. La crise trypanolytique s'est faite chez le cobaye dératé comme chez le témoin.

27 et 28 mai, trypanosomes assez nombreux dans le sang du cobaye. — 29 mai, trypanosomes rares. — 30 mai, très rares. — 31 mai, l'examen du sang est négatif. — 1er et 2 juin, trypanosomes rares. — Du 3 au 7 juin, trypanosomes assez nombreux. — 8 juin, trypanosomes très nombreux.

Dans une préparation de sang du 8 juin, on trouve quatre inclusions de trypanosomes dans des mononucléaires au cours d'un examen qui dure 15 minutes.

Le cobaye meurt le 8 juin.

Autopsie faite aussitôt après la mort. La rate pèse 2gr,50. Les ganglions inguinaux sont légèrement augmentés de volume. La moelle osseuse est rouge hyperémiée.

Expérience IV. — A. Un rat, du poids de 120 grammes, est dératé le 10 mai 1907. Le 21 mai, le rat, qui est guéri de l'opération, est inoculé de Surra sous la peau.

Le 24 et le 25 mai, l'examen du sang du rat est négatif. — 26 mai, trypanosomes non rares. — 27 mai, nombreux. — 28 mai, très nombreux.

Mort dans la journée du 28 mai.

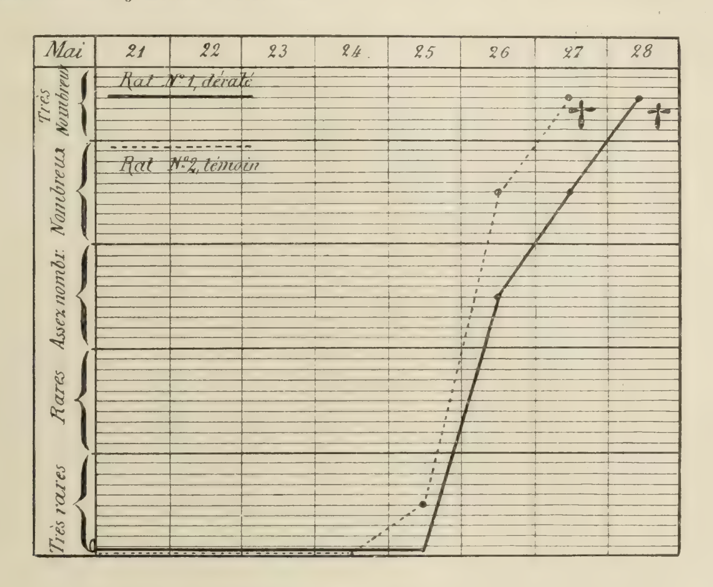


Figure VI.

Autopsie. La plaie abdominale est bien cicatrisée, pas de péritonite; la rate a été complètement enlevée. Les ganglions axillaires sont notablement augmentés de volume, l'hypertrophie des ganglions inguinaux est moins marquée que celle des ganglions axillaires.

B. Un rat, du poids de 108 grammes, est inoculé le 21 mai de Surra sous la peau; il reçoit la même quantité de virus que le rat dératé auquel il sert de témoin.

Le 24 mai, l'examen du sang du rat est négatif. — 25 mai, trypanosomes très rares. — 26 mai, trypanosomes nombreux. — 27 mai, très nombreux.

Trouvé mort le 28 mai, au matin.

La rate pèse 1gr,30.

Les tracés de la figure VI montrent que l'infection a eu à très peu près la même évolution chez le rat dératé et chez le témoin.

Expérience V. — A. Un rat du poids de 100 grammes est dératé le 10 mai 1907. Le 21 mai, le rat, qui est guéri de l'opération, est inoculé de Surra sous la peau.

Les 24 et 25 mai, l'examen du sang du rat est négatif. — 26 mai, trypanosomes non rares. — 27 mai, trypanosomes nombreux; à 11 heures du matin, le rat pousse quelques cris, il a des mouvements convulsifs et meurt brusquement; les accidents ont duré une minute au plus.

Deux préparations de sang du 27 mai dans lesquelles les parasites sont très nombreux sont examinées longuement, après coloration, sans qu'on y découvre des inclusions de trypanosomes dans des leucocytes.

Autopsie faite immédiatement après la mort. La plaie abdominale est bien cicatrisée; il n'y a pas de péritonite; la rate a été complètement enlevée.

Les frottis de moelle osseuse contiennent peu d'hématies et peu de trypanosomes, souvent réduits au noyau; inclusions assez nombreuses.

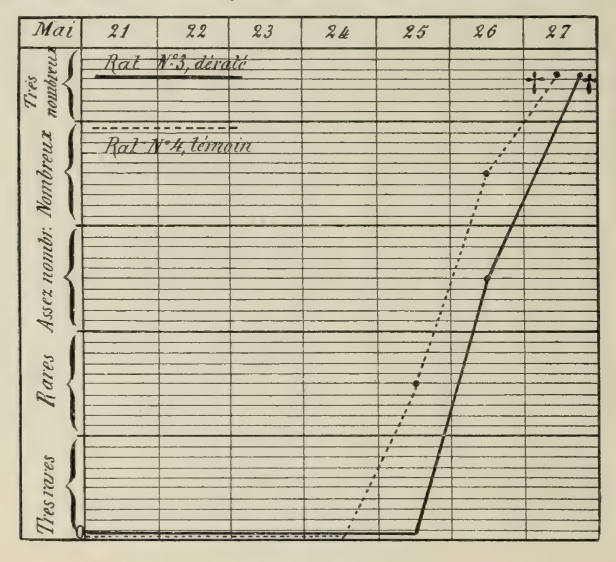


FIGURE VII.

B. Un rat, du poids de 100 grammes, est inoculé le 21 mai de Surra sous la peau; il reçoit la même quantité de virus que le rat dératé auquel il sert de témoin.

Le 24 mai, l'examen du sang du rat est négatif. — 25 mai, trypanosomes rares. — 26 mai, trypanosomes nombreux. — 27 mai, très nombreux. Dans des frottis de sang colorés, on cherche vainement des inclusions de trypanosomes dans des leucocytes.

Le rat est trouvé mort le 28 mai au matin (il est mort dans la nuit du 27 au 28). La rate pèse 1gr,50.

Les tracés de la figure VII montrent que l'infection a eu à très peu près la même évolution chez le rat dératé et chez le témoin.

La durée moyenne de la maladie chez les cobayes dératés a été de 17 jours; chez les témoins, elle a été de 23 jours; mais

cette différence dans la durée est due à ce qu'un des témoins a survécu 47 jours à l'inoculation, ce qui est un fait exceptionnel avec le virus que nous avons employé [1] ; dans les expériences I, II et III, des cobayes dératés ont survécu 21 et 22 jours à l'inoculation, alors que les témoins mouraient en 18 jours; un des témoins est même mort en 9 jours.

Chez les deux rats dératés, la durée de la maladie a été de 6 et de 7 jours, alors qu'elle était de 7 jours chez les témoins.

Chez les cobayes dératés, la crise trypanolytique s'est produite comme chez les cobayes normaux (fig. III, IV, V) et souvent mieux que chez les témoins.

Les inclusions de trypanosomes dans des leucocytes n'on pas été observées plus souvent dans le sang des cobayes dératés que dans le sang des cobayes normaux.

L'aspect de la moelle osseuse chez les animaux dératés n'a pas paru différer de celui de la moelle des animaux normaux; les inclusions ont été notées quelquefois comme plus nombreuses.

Les infections produites par des trypanosomes s'accompagnent en général d'hypersplénie et parfois cette hypersplénie atteint des proportions énormes. Pour une même trypanosomiase, le Surra par exemple, on observe d'ailleurs de grandes différences suivant les espèces animales ; l'hypersplénie très marquée chez le chien, le cobaye, le rat et la souris est légère chez le lapin, chez les ovinés et les caprins. C'est chez les animaux qui ont le plus grand nombre de parasites dans le sang que l'hypersplénie atteint ses plus fortes proportions. Il semble que le rapport devrait être inverse si la rate avait la propriété de détruire les trypanosomes.

L'hypertrophie des ganglions lymphatiques, si commune dans la trypanosomiase humaine, est en rapport avec la pullulation des parasites dans ces glandes et c'est en ponctionnant les ganglions hypertrophiés que l'on constate le plus facilement l'existence des trypanosomes.

Nous croyons pouvoir tirer de nos recherches les conclusions suivantes :

1. Ce virus, à la suite de nombreux passages par cobayes, est devenu plus virulent pour ces animaux qu'il n'était au début de mes recherches, il y a quatre ans. A. Laveran.

1° Quand on se place dans de bonnes conditions d'observation, on constate que les trypanosomes pris dans la rate pendant la vie ou aussitôt après la mort ont le même aspect que ceux qui ont été recueillis dans le sang de la grande circulation ;

2° L'extrait de rate n'a pas de propriétés trypanolytiques *in vitro ;*

3° Chez les animaux dératés, l'évolution des trypanosomiases n'est pas sensiblement modifiée ;

4° Dans les trypanosomiases, comme dans le paludisme, la rate contribue sans doute à débarrasser la circulation des débris des hématozoaires, à la suite des crises trypanolytiques, comme à la suite des accès palustres, mais à cela paraît se borner son rôle[1].

1. Ce travail était déjà imprimé quand une nouvelle note de MM. Rodet et Vallet a été communiquée à l'Académie des Sciences (séance du 22 juillet 1907) ; nous croyons avoir montré (*Acad. des Sciences*, 29 juillet 1907) que les nouveaux arguments invoqués par MM. Rodet et Vallet en faveur du pouvoir destructeur de la rate sur les trypanosomes ne sont pas convaincants.

Action du "Bacillus subtilis" sur diverses bactéries

Par MAURICE NICOLLE

Nous avons fait — à différentes époques et nous plaçant à des points de vue variés — un grand nombre d'expériences concernant l'action du *B. subtilis* sur d'autres bactéries. Il nous a paru indiqué de réunir aujourd'hui, sous une forme aussi concise que possible, les résultats de la majorité de ces expériences. Mais le sujet n'est point épuisé; loin de là, et nous aurons l'occasion d'y revenir.

CARACTÈRES PRINCIPAUX DU *B. SUBTILIS* EMPLOYÉ DANS NOS EXPÉRIENCES

Il s'agit d'un *B. subtilis* type, isolé jadis de l'air, à Constantinople. Il liquéfie la gélatine, le sérum coagulé et l'ovalbumine coagulée (à condition, toutefois, que l'on additionne celle-ci, avant coagulation, d'un quart de bouillon ordinaire, sans quoi le développement n'a point lieu).

Il « éclaircit » le lait. Ses cultures filtrées jouissent de propriétés intéressantes et notamment d'un pouvoir bactériolytique élevé, ainsi qu'on le verra plus loin.

Les meilleurs filtrats sont obtenus en cultivant, à 37°, notre *subtilis* dans le bouillon peptonisé (2 0/0), réparti en boîtes de Roux, à raison de 100 c. c. de milieu par boîte. Les bouillons peptonisés à 1 0/0, 3 0/0 et 4 0/0 — l'eau peptonisée à 2 0/0, gélatinisée ou non — le bouillon peptonisé (2 0/0) et glucosé (0,5 0/0) — se montrent moins bons. Les filtrats de cultures en lait demeurent très médiocres ; ceux de cultures en liquide Fränkel, quasi-inefficaces.

Le meilleur moment, pour procéder à la filtration, est le 4e jour (3 jours pleins); avant ou après, on risque d'avoir des résultats moins satisfaisants.

Nos filtrats sont inactifs sur le sérum coagulé, l'ovalbumine coagulée et le lait; ils liquéfient la gélatine, hémolysent les globules rouges (lapin) et se montrent fortement kinasiques

(Delezenne[1]); enfin, ils offrent une parfaite innocuité : un lapin a pu recevoir, impunément, 300 c. c. en 73 jours, dans le péritoine. Du reste, le *subtilis*, lui-même, apparaît bien peu toxique; nous avons fait voir, ailleurs (Études sur la morve expérimentale), que les masses microbiennes provenant de cultures sur milieu solide, exposées aux vapeurs chloroformiques (qui ne tuent point les spores, même après 190 jours à 37°) étaient supportées *à dose énorme* par les cobayes. Ces animaux ne succombent jamais lorsqu'on leur injecte $0^{gr},50$ dans l'abdomen; avec 1 gramme, la résistance s'observe le plus souvent; il faut aller jusqu'à 2 grammes pour tuer régulièrement (lors d'une terminaison rapide, on rencontre un épanchement péritonéal, qui donne des cultures positives; lors d'une terminaison lente, le cadavre ne présente aucune lésion et demeure stérile).

Nous avons fait quelques expériences, avec plusieurs organismes voisins du *subtilis* tels que : les *tyrothrix distortus, geniculatus, tenuis*... de Duclaux — deux échantillons de *mesentericus* — et un bacille isolé par notre collègue Mazé. Ces organismes se comportent, d'une façon générale, comme le *subtilis*, mais leurs propriétés bactériolytiques demeurent habituellement moins accentuées.

L'influence du *subtilis* sur les autres microbes a été étudiée, disions-nous, à des points de vue variés. Nous envisagerons, successivement, dans ce travail : le développement simultané du *subtilis* et d'une autre bactérie (*cultures symbiotiques*) — le *développement du subtilis aux dépens de différents germes* — et le *pouvoir bactériolytique des filtrats de subtilis vis-à-vis d'un certain nombre d'organismes* (et, en particulier, du pneumocoque).

CULTURES SYMBIOTIQUES

Le Dr Roux a démontré, il y a des années, que les *anaérobies stricts* se développent aisément dans les liquides exposés au contact de l'air, lorsqu'on ensemence, en même temps, le *bacillus subtilis*. La culture, en voile, de cet aérobie strict absorbe, durant sa formation, l'oxygène dissous par le milieu et empêche, une fois formée, toute aération ultérieure; d'où la croissance facile de l'anaérobie associé.

1. Les kinases microbiennes. Leur action sur le pouvoir digestif du suc pancréatique vis-à-vis de l'albumine (*C. R. Soc. de Biologie*, 1902, p. 998).

Plus tard, Debrand appliqua ces données, avec succès, à la production de la toxine tétanique. Nous avons fait, de notre côté, des expériences analogues, portant sur plusieurs anaérobies. En voici le résumé.

Bacille tétanique. — Dans ce cas et dans les suivants, nous employions, comme vases de culture, des flacons ordinaires de pharmacie (125 c. c.), contenant 100 c. c. de milieu. En bouillon peptonisé classique (1 0/0 de peptone), le B. tétanique dont nous nous servions à Constantinople, ensemencé avec le *B. subtilis*, fournissait, vers le 5e jour (optimum d'activité), une toxine susceptible de tuer rapidement le cobaye adulte sous le volume de 1/2 0000e de c. c. Cette toxine nous a permis d'obtenir, par injections répétées au cheval, un excellent sérum antitétanique. Nos recherches confirment donc pleinement celles de Debrand.

Vibrion septique. — Nous avons étudié, parallèlement, trois échantillons différents de pouvoir toxigène très variable (cultures en bouillon-Martin). Le maximum d'activité des *filtrats* (Berkefeld) s'est manifesté, ici encore, vers le 5e jour; le 10e jour, 5 c. c. des « bons » filtrats (et, *a fortiori*, des « mauvais »), injectés dans les veines du lapin, n'ont jamais déterminé d'accidents. Les expériences suivantes prouvent que, tout au moins pour le vibrion B, le bacille de Mazé donne de meilleurs résultats que le *subtilis*.

Filtrats du 5e jour. Injection de 5 c. c. dans les veines du lapin adulte (2,000 à 2,500 gr.)	Vib. A..	+ *subtilis* : mort en 1 à 2 heures (3 exp.).
	Vib. B.	+ *subtilis* : émaciation moyenne (3 exp.).
		+ b. Mazé : mort en 10 à 17 minutes (3 exp.).
	Vib. C.	+ *subtilis* : aucun effet (3 expériences).
		+ b. Mazé : aucun effet (3 expériences).

Bacterium Chauvoei. — Nous avons étudié, parallèlement (cultures en bouillon-Martin), deux échantillons, dont l'un s'est montré atoxigène. Les filtrats du second, actifs le 5e jour, ne l'étaient plus le 10e. Avec le *B. Chauvoei* B, le B. de Mazé l'emportait encore sur le *subtilis*, comme on va le voir.

Filtrats du 5e jour. Inj. de 5 c. c. dans les v. du lapin adulte.	Bac. A..	+ *subtilis* : aucun effet (3 expériences).
	Bac. B.	+ *subtilis* : mort en 1 jour à 1 j. 1/2 (3 exp.).
		+ b. Mazé : mort en 1-2 heures (3 expér.).

Bacillus perfringens. — Les filtrats, obtenus par culture à l'abri de l'air, sont inactifs (Veillon — communication orale); la symbiose ne nous a pas donné de meilleurs résultats.

Bacillus putrificus coli. — Les filtrats des cultures anaérobies ne jouissent d'aucun pouvoir toxique (Bienstock) ; de même, dans nos expériences avec le *subtilis*.

En somme, la méthode Roux-Debrand, d'une application si simple, est appelée certainement à rendre de grands services ; nous la considérons même, pour notre part, comme la méthode d'élection, quand on tient à éviter les surprises dans la préparation des toxines des anaérobies. Il nous a toujours semblé, en effet, lors de nos expériences comparatives, qu'elle fournissait, bien plus régulièrement que le procédé classique, des poisons très actifs, vers le 5e jour de culture. Par contre, il est indéniable que l'efficacité de ces poisons ne tarde point à fléchir. L'explication de tels faits n'offre aucune difficulté : d'une part, le *subtilis* (ou le B. de Mazé) ajoute son action hétérolysante à l'action autolysante de l'anaérobie associé, d'où une mise en liberté plus hâtive de la toxine ; — d'autre part, il détruit énergiquement cette toxine, au fur et à mesure de sa libération ; aussi arrive-t-il bientôt un moment à partir duquel la perte l'emportera de plus en plus sur le gain. Il faut donc s'arranger pour utiliser les cultures vers le 5e jour, ou bien les précipiter alors, par le sulfate d'ammoniaque, afin de conserver les poisons à leur état de toxicité maxima.

Nous avons fait quelques expériences de symbiose, avec le *subtilis* et divers *anaérobies facultatifs*. Encore que peu nombreux, les résultats paraissent intéressants et nous nous proposons de ne point abandonner cette voie nouvelle.

DÉVELOPPEMENT DU *SUBTILIS* AUX DÉPENS DE DIFFÉRENTS GERMES

Si l'on émulsionne, en eau physiologique (et, éventuellement, en liquide Fränkel), diverses bactéries cultivées sur milieu solide, de façon à obtenir une suspension épaisse, et que l'on ensemence le *subtilis* dans ce milieu inhabituel, on observe un développement, d'ordinaire très riche, aux dépens des germes nourriciers. Corrélativement, la suspension « s'éclaircit » plus ou moins complètement et cet éclaircissement varie, bien entendu, suivant l'organisme en jeu.

De tous les microbes étudiés par nous, le pneumocoque se montre le plus sensible à l'action bactériolysante du subtilis ;

puis, viennent le B. de la morve, le B. typhique, le B. charbonneux (mais non la spore), le B. de Shiga... ; le staphylocoque est moins touché, le *B. suipestifer* fort peu.

(*Nota.* — L'injection des cultures morveuses, « éclaircies » par le *subtilis*, n'a jamais permis de vacciner le cobaye contre le virus vivant.)

On peut également ensemencer le *subtilis* dans les cultures bactériennes liquides déjà développées ; les résultats sont de même ordre que tout à l'heure et les phénomènes rappellent beaucoup ceux dont nous avons parlé au chapitre des associations symbiotiques.

L'action bactériolysante du *subtilis* étant bien établie, il était indiqué de s'adresser de préférence aux filtrats de ce microbe ; c'est ce que nous avons fait.

POUVOIR BACTÉRIOLYTIQUE DES FILTRATS DE *SUBTILIS* VIS-A-VIS D'UN CERTAIN NOMBRE D'ORGANISMES

Si l'on émulsionne, dans ces filtrats, les bactéries qui ont été mentionnées plus haut, cultivées sur milieu solide (à raison de 1/2 centigramme de microbes pour 2 c. c. de filtrat), et si l'on porte à l'étuve pendant 24 heures, on constate, ici encore, un « éclaircissement » plus ou moins complet, parfois suivi d'un développement des germes demeurés saufs. Il est aisé d'entraver ce développement à l'aide d'une trace de chloroforme, mais il faut savoir que l'on ajoute alors l'action autolysante de l'organisme à l'action hétérolysante du filtrat ; d'où la nécessité de faire entrer en ligne de compte ce second facteur dans l'appréciation des résultats obtenus.

Le pneumocoque se dissout facilement ; puis, viennent : le B. de la morve, le B. typhique, le *B. coli*, le vibrion cholérique... comme avec le *subtilis* vivant.

On peut varier l'expérience en mêlant (à parties égales) les filtrats bactériolytiques et les cultures liquides des germes étudiés. Et l'on observe toujours les mêmes apparences : le pneumocoque tient la tête ; le B. de la morve, le B. pesteux, le B. typhique, le B. charbonneux, le *B. suisepticus*, le vibrion cholérique... le suivent, à une distance plus ou moins grande ; le *B. suipestifer* ne semble pas attaqué.

(*Nota.* — La « solution » de B. charbonneux [préalablement filtrée — les

spores résistant à l'action bactériolysante] est très bien supportée par les animaux [on peut en injecter jusqu'à 20 c. c. à la fois dans le péritoine du cobaye et 40, dans celui du lapin], mais ne les immunise point [un cobaye qui avait reçu, du 6 décembre 1902 au 26 février 1903, 150 c. c. dans le péritoine, et un lapin qui avait reçu, du 15 octobre 1902 au 7 mars 1903 760 c. c. par la même voie n'ont manifesté aucune augmentation de résistance].

Par contre, la « solution » de *B. suisepticus* semble jouir de propriétés vaccinantes [lapin].)

En résumé, les résultats qui précèdent rappellent très exactement, au point de vue de la « solubilité » respective des diverses bactéries, ceux que nous avons obtenus, avec Adil-bey, lors de nos recherches sur l'action bactériolysante de la bile (*ces Annales*, janvier 1907). Ils sont également comparables, sous ce rapport, à ceux que fournissent les expériences d'autolyse — ainsi que nous le démontrerons dans un autre travail.

ACTION DES FILTRATS DE *SUBTILIS* SUR LE PNEUMOCOQUE

Le pouvoir bactériolytique que ces filtrats manifestent vis-à-vis du microbe de Talamon-Fränkel — tout comme celui qu'exerce la bile — permet d'aborder le problème de la vaccination antipneumococcique par un côté nouveau. Aussi nous étendrons-nous un peu sur le sujet.

Technique. — On mélange, à parties égales, les filtrats de *subtilis* et les cultures de pneumocoque (ces dernières, faites en eau peptonisée [2 0/0], salée [0, 5 0/0] et glucosée [0, 5 0/0] et datant de 24 heures). On scelle le tube ou le ballon qui contiennent le mélange, on agite et on place à 40°. Les cultures, très riches, s'éclaircissent généralement en quelques heures et se montrent presque toujours stériles, le lendemain, lorsqu'on les injecte aux animaux sous le volume de 20-40 c. c. Exceptionnellement, des unités microbiennes peuvent avoir échappé à la bactériolyse et les lapins périront plus ou moins vite (d'ordinaire, après plusieurs jours seulement). Afin d'éviter ce contretemps, nous conseillons de filtrer les « solutions pneumococciques, ou, mieux encore, d'ajouter, dès le début de l'expérience, 1 goutte de chloroforme par 10 c. c. de mélange ; dans ce dernier cas, l'autolyse joindra forcément ses effets à ceux de l'hétérolyse, mais, pratiquement, la chose est sans importance aucune.

(*Remarques.* — Pour faire pousser le pneumocoque en eau peptonisée sucrée, nous nous servons, comme semence, d'une culture de 24 heures en bouillon-Martin-ascite. Il ne faut pas employer plus d'une goutte de celle-ci pour 10 c. c. d'eau peptonisée sucrée, sans quoi l'excès de sérosité péritonéale gêne la dissolution du pneumocoque. Corrélativement, la culture-mère ne doit point avoir plus de 24 heures, car une goutte de semence plus âgée ne suffit pas à fertiliser 10 c. c. du milieu glucosé.

Le pneumocoque, cultivé en eau peptonisée sucrée, puis lavé à l'eau physiologique [par centrifugage] et émulsionné avec l'eau physiologique, se montre bien plus soluble que la culture originelle dans les filtrats de *subtilis*, ce qui tient, évidemment, à l'élimination de *substances empêchantes.* [Nous avons observé le même phénomène, avec Adil-bey, lors de nos études sur la bile, citées plus haut.]

Résultats expérimentaux. — Les « solutions pneumococciques » vaccinent aisément les lapins (2,000 à 2,500 grammes) contre l'injection sous-cutanée de 10 c. c. d'une culture en bouillon-ascite (1 jour), dose mortelle dans les 24 heures (notre pneumocoque faisait encore périr les animaux à 10^{-4} c.c.; nous n'avons point étudié les dilutions plus étendues). La voie, employée de préférence pour l'immunisation, a été la *voie abdominale.* 20 c. c. de mélange clair suffisent, à de très rares exceptions près; mais, si l'on veut réussir constamment, il vaut mieux aller jusqu'à 40 c. c., d'autant que le vaccin se montre d'une parfaite innocuité. Aucun degré de résistance n'a pu être obtenu avant le 4e jour (3 jours pleins), que les mélanges fussent restés 1, 2, 3... ou 10 jours dans l'étuve, ou qu'on eût mis en œuvre divers artifices (inutiles à rapporter ici), avec l'espoir de rendre l'immunité plus précoce. Après 3 jours pleins, on n'observe, en général, qu'un retard sur les témoins, mais ce retard est habituellement marqué. Après 4 jours, et, *a fortiori*, après 5, 6... 10 jours, l'animal résiste; il maigrit souvent, mais ne tarde pas à reprendre son poids initial.

Au lieu de la voie abdominale, on peut s'adresser aux *voies intra-veineuse ou intra-musculaire;* le résultat est le même : point de résistance avant 3 jours pleins. Les filtrats de *subtilis* étant très alcalins, le mélange le demeure encore notablement, malgré l'acidité des cultures pneumococciques; c'est là un véritable inconvénient, lorsque l'on se propose de vacciner les lapins par la *voie sous-cutanée.* Il suffira de neutraliser les

« solutions » microbiennes avec l'acide acétique dilué, pour éviter une trop vive réaction locale; nous conseillons également d'injecter le liquide neutre en 4 points différents du tissu cellulaire. Ces précautions prises, on verra l'immunité apparaître comme d'habitude. — Cette immunité semble, dans tous les cas, commencer à fléchir vers le 3e mois.

Parallèlement à la méthode précédente, il était indiqué d'étudier l'immunisation par des doses égales de cultures chauffées (1/2 heure à 58°). Nous avons fait l'expérience, et elle nous a montré que, dans ces conditions, l'état réfractaire ne commence qu'après 6 jours pleins (retard sur les témoins) et n'est solidement établi qu'après 8. De plus, *les cultures chauffées sont toxiques*, car bien des animaux maigrissent notablement et ne peuvent être éprouvés qu'au bout d'un temps assez long.

Par conséquent, les « solutions de pneumocoque » offrent, vis-à-vis des cultures chauffées, le double avantage d'être absolument inoffensives et de vacciner plus vite; et nous considérons, pour notre part, le second de ces avantages comme une conséquence logique du premier. *Les filtrats de subtilis sont* donc *antitoxiques;* insistons un peu sur ce point. En 1897, M. Metchnikoff a prouvé que certains organismes, du groupe du *subtilis*, jouissent du pouvoir de détruire diverses toxines. Nos expériences, sur les cultures symbiotiques, confirment déjà cette manière de voir. D'autre part, des recherches *directes*, dans lesquelles nous avons soumis, à l'influence des filtrats de *subtilis*, les poisons tétanique, diphtérique et septique, ne sauraient laisser persister le moindre doute quant au pouvoir antitoxique de ces filtrats.

(*Nota.* — Les lapins, auxquels on injecte, dans le péritoine, de fortes doses d'un mélange de poison tétanique et de filtrat de *subtilis*, peuvent avoir, vers le 10e jour, un sérum modérément, mais *très nettement* antitoxique; et cependant, après un mois, ils succombent, comme les témoins, à l'épreuve par la quantité strictement mortelle de tétanine. — Expériences faites, sur notre demande, par notre collègue Morax.)

Le sérum des lapins qui ont reçu, dans le péritoine, des doses énormes de « solutions pneumococciques » (par exemple 760 c. c., du 29 septembre 1902 au 9 janvier 1903) ne manifeste, *in vivo*, aucune efficacité à l'endroit des germes vivants.

En terminant, nous devons nous poser les deux questions suivantes : par quel moyen le *subtilis* détermine-t-il la bactériolyse? — quel est l'élément « dissolvant » de ses filtrats? Le *subtilis* produit, au moins, 2 enzymes protéolytiques, une *trypsine* et une *gélatinase;* il peut donc agir sur les autres microbes soit par ces ferments, soit par des diastases analogues. Les filtrats ne contiennent point de trypsine, mais recèlent de la gélatinase ; ils peuvent donc agir sur les micro-organismes soit par celle-ci, soit par un principe voisin, *thermolabile* comme elle (les filtrats chauffés à 100° perdent, en effet, leur faculté « dissolvante » vis-à-vis des germes et vis-à-vis de la gélatine). L'existence d'un *enzyme bactériolytique* (ou, peut-être, d'un groupe d'enzymes bactériolytiques) *propre* semble ressortir de l'expérience suivante : si l'on classe, par ordre d'activité croissante (ou décroissante) sur la gélatine et sur divers microbes, les filtrats que fournissent le *subtilis* et plusieurs organismes voisins, on s'aperçoit que cet ordre n'est pas du tout le même dans les deux cas.

Des recherches, faites jadis à Constantinople avec Adil-bey, nous ont montré qu'au regard de la *pancréatine Defresne* et des *macérations de pancréas*, le pneumocoque et un certain nombre d'autres bactéries offrent, d'une façon générale, les mêmes différences de « solubilité » qu'au regard de la bile et des filtrats de *subtilis*. Quelques expériences, entreprises depuis avec notre collègue Delezenne, en employant le *suc pancréatique actif*, ont fourni des résultats analogues.

(*Nota.* — 1 gramme de microbes du choléra des poules très virulents, ayant été complètement « éclairci » par 1 litre de macération pancréatique, 5 à 20 c. c. de la « solution », injectés dans le péritoine des pigeons, ne les ont pas vaccinés contre des dilutions très étendues de culture en bouillon-Martin-ascite.)

ROLE DES BACTÉRIES
dans le développement de certains Myxomycètes

Par Ernest PINOY

(Avec les planches XIII, XIV, XV et XVI.)

INTRODUCTION

Les Myxomycètes constituent un matériel de choix pour le biologiste qui veut étudier la chimie et la physiologie cellulaire. Les masses protoplasmiques parfois considérables que forment certains d'entre eux, comme *Æthalium septicum*, *Spumaria alba*, etc., ont permis à Pfeffer, Stahl, Metchnikoff, d'élucider bien des points intéressants pour la biologie générale. Les travaux de de Bary, Brefeld, Van Tieghem, Lister, Strasburger, Woronin, Jahn, Olive nous ont fait connaître le cycle évolutif et la morphologie de ces êtres. Cependant, s'il reste beaucoup à faire sur ce sujet pour les chercheurs, cela vient de la difficulté d'obtenir le matériel en état au moment voulu, cela vient de ce que les conditions de développement des Myxomycètes sont imparfaitement connues.

La méthode pasteurienne, qui a donné de si beaux résultats dans le domaine de la cryptogamie, n'a pour ainsi dire pas été appliquée à l'étude des Myxomycètes; quelques auteurs, toutefois, ont fait des cultures pour étudier leur développement; mais ce sont des cultures où le plus souvent pullulaient des Amibes, des Flagellates, les Bactéries les plus variées et qui, par suite, n'offraient aucune des garanties de la technique rigoureuse établie par Pasteur et ses élèves. Dans le présent travail, en me servant de cette technique, j'étudierai d'abord les conditions de culture et de développement du *Dictyostelium mucoroides*, l'influence des Bactéries et du milieu de culture sur son développement et sur sa morphologie, la diastase intracellulaire que sécrètent ses myxamibes dans leurs vacuoles digestives. Puis j'examinerai si les faits observés chez cette Acrasiée ont une portée plus générale et je ferai l'exposé de mes recherches comparatives sur deux autres Acrasiées, le *Dictyostelium purpureum* Olive et

le *Polysphondylium violaceum* Brefeld, sur quelques Myxomycètes endosporés et plus particulièrement sur *Didymium difforme* Duby, *Didymium effusum* Link, enfin sur un Myxomycète parasite, le *Plasmodiophora brassicæ* Woronin.

Ce travail a été commencé au laboratoire de M. le professeur Bonnier et terminé à l'Institut Pasteur, au laboratoire de M. le Dr Borrel.

Soit à la Sorbonne, soit à l'Institut Pasteur, mes maîtres ne m'ont ménagé ni leurs conseils, ni leurs encouragements. Aussi est-ce pour moi un devoir agréable à remplir que de leur adresser ici mes sincères remerciements. Que M. le professeur Bonnier, MM. les Drs Roux et Metchnikoff, MM. Matruchot et le Dr Borrel veuillent bien recevoir l'hommage de ma profonde reconnaissance.

MM. Mesnil, le Dr Nicolle, Delezenne m'ont souvent donné d'utiles renseignements ; M. Boudier, M. le professeur Mangin, M. le professeur Thaxter, MM. les Drs Binot et Delacroix m'ont aimablement fourni des matériaux d'études, je leur exprime toute ma gratitude.

I

RECHERCHES SUR *DICTYOSTELIUM MUCOROIDES*

Les Myxomycètes acrasiés vivent sur les crottins de divers animaux, sur les Champignons pourris, plus rarement sur le bois mort. Ils se laissent assez facilement cultiver sur les milieux artificiels. Aussi a-t-on pu suivre leur développement, soit en gouttes pendantes, soit dans des tubes de culture. Les auteurs qui les ont tout d'abord étudiés, Brefeld (3), Van Tieghem (33), ne se sont pas préoccupés d'avoir des cultures pures. Nadson (21), le premier, a attiré l'attention sur le rôle que pouvaient jouer les Bactéries dans ces cultures. Il cultive *Dictyostelium mucoroides* avec *Bacillus fluorescens* var *liquefaciens*. Pour ce savant, il y a symbiose entre le *Dictyostelium mucoroides* et la Bactérie, la Bactérie n'agissant que par l'alcalinisation du milieu. Pourtant il est possible, d'après lui, d'avoir quelques appareils de fructification, étiques, il est vrai, mais purs, sans Bactéries. Potts (26), conclut que le *Dictyostelium mucoroides* ne peut vivre qu'associé à une Bactérie. Vuillemin (34) aurait vu toutefois des myxamibes se développer sans Bactéries et constate en outre qu'il y a des

Bactéries dans les vacuoles et qu'elles y sont digérées. Ce dernier résultat est en opposition absolue avec les observations de Potts. Potts n'a jamais constaté de Bactéries dans les vacuoles des myxamibes du *D. mucoroides;* il croit pouvoir démontrer en outre que les Bactéries sont solubilisées par une diastase extracellulaire. Des corps de Bactéries, notamment de *Bacterium fimbriatum*, tuées par le chloroforme, suffiraient pour la culture de *D. mucoroides.* En résumé, les questions pendantes sont les suivantes :

1° Peut-on obtenir un léger développement du *D. mucoroides* sans Bactéries ?

2° Les Bactéries ne servent-elles qu'en préparant des aliments solubles pour le *D. mucoroides?* Y a-t-il une diastase extracellulaire ou une diastase intracellulaire ?

Dans les recherches que je vais exposer, je tâcherai de répondre à ces divers points.

Obtention de la culture pure mixte de *Dictyostelium mucoroides.*

Le *Dictyostelium mucoroides* qui fait l'objet de cette étude a été rencontré sur une Pezize pourrie dans la forêt de Carnelles. La tête sporifère et le pied étaient blancs dans les jeunes exemplaires ; ils devenaient jaunâtres chez les échantillons plus âgés. Les spores elliptiques mesuraient en moyenne 2 μ, 5 sur 4 μ. Quelques spores étaient de dimensions plus grandes pouvant aller de 3 μ à 5 μ. Le pied de l'appareil sporifère était long et flexueux. Sa longueur dépassait 1 centimètre. Pourtant il y avait quelques appareils dont le pied ne mesurait pas plus de 2 millimètres.

La petite gouttelette d'une tête sporifère, constituée par des spores plongées dans du mucus, fut prélevée à l'aide d'une spatule flambée. On prenait soin de ne pas emporter le pied en même temps. L'ensemencement fut fait tout d'abord sur des tranches de carottes stérilisées contenues dans des tubes de Roux. La première culture obtenue sur ce milieu s'est développée en 3 jours à la température de 22°. Cette culture n'était pas pure et renfermait des Bactéries. A l'examen microscopique, il paraissait n'y avoir qu'une seule espèce bactérienne ; on voyait en effet des Bacilles mobiles, de même dimension, ne prenant pas le Gram.

Cependant, d'une part, pour avoir la certitude qu'il n'y avait qu'une seule espèce bactérienne, d'autre part pour pouvoir étudier cette Bactérie, il était nécessaire de faire une séparation.

Dans ce but, j'ai encore prélevé aussi purement que possible une petite gouttelette sporifère dans un des tubes de culture que je venais d'examiner, puis je l'ai diluée dans du bouillon et à l'aide de ce bouillon j'ai fait, suivant la technique usuelle, la séparation en boîtes de Petri sur gélatine ordinaire. Les colonies bactériennes séparées se sont montrées exclusivement formées par une Bactérie fluorescente liquéfiante. Quoique les colonies, macroscopiquement et microscopiquement, aient paru pures, pour éviter la possibilité d'un germe étranger, à l'aide d'une colonie diluée de même dans le bouillon. j'ai fait une nouvelle séparation sur gélatine. C'est en partant d'une colonie ainsi obtenue que j'ai poursuivi l'étude de la Bactérie isolée, par l'ensemencement sur les milieux dont on se sert couramment en bactériologie.

Cette Bactérie, comme nous l'avons vu plus haut, est un Bacille mobile, ne prenant pas le Gram. Elle est de petites dimensions de 1 μ à 2 μ de longueur, la largeur atteint à peine 0 μ 5.

Sur plaques de gélatine, les colonies bien visibles au bout de 2 jours sont rondes, grisâtres. Elles ne tardent pas à montrer tout autour une zone de liquéfaction qui se teint en vert clair, fluorescent. Le bouillon se trouble rapidement ; il se forme un voile à la surface, puis un dépôt muqueux se fait au fond du tube de culture. Le bouillon a une belle fluorescence vert jaunâtre. Sur pomme de terre, l'ensemencement donne une strie jaune brunâtre luisante. Sur gélose, les colonies sont grises et fluorescentes. Le pigment fluorescent diffuse dans le milieu. Sur le milieu d'épreuve de Gessard, il n'y a pas production de pyocyanine. Cette Bactérie n'a pas de spores ; elle ne se développe pas à une température supérieure à 35°. Mise en tubes capillaires en milieu liquide, elle est tuée à 56° en 2'.

L'ensemble des caractères de cette bactérie nous permet de la rapprocher du *Bacillus fluorescens* var. *liquefaciens* (Flügge). Ainsi, comme l'avait fait Nadson, j'ai obtenu une culture mixte du *Dictyostelium mucoroides* avec le *Bacillus fluorescens* var *liquefaciens*.

Etait-il possible d'obtenir une culture pure ?

Les milieux de culture solides et transparents qui ont été utilisés par les auteurs sont très divers ; ceux qui donnent les meilleures résultats sont l'agar peptonée et glucosée, l'agar au bouillon de maïs. La gélatine au bouillon de maïs a pu servir à Potts parce que la Bactérie qui était associée dans ses cultures et qu'il décrit comme nouvelle sous le nom de *Bacterium fimbriatum* ne liquéfiait pas la gélatine.

Après des essais comparatifs, le milieu de culture qui m'a donné le plus grand rendement, ce que l'on juge facilement au nombre de fructifications produites dans la culture, est la gélose à la graine de lin. Ce milieu donne d'ailleurs également de très bons résultats pour la culture des Amibes et des Infusoires.

Voici sa composition :

Pour un litre d'eau, 20 grammes de gélose, 50 grammes de graines de lin. Chauffer à 117°. Répartir dans les vases de culture et stériliser à 115° pendant 1/4 d'heure.

Ce milieu ne peut se filtrer ; si on veut l'obtenir clair, il faut, après le premier chauffage, verser la gélose dans un large entonnoir dont l'extrémité est bouchée, mettre à l'étuve à 37° de manière à ce que la gélose se refroidisse moins vite et reste plus longtemps liquide. Dans ces conditions, toutes les impuretés tombent au fond de l'entonnoir. Quand la gélose a fait prise, on détache le bloc de l'entonnoir, on coupe la calotte inférieure, le sommet du cône, qui contient les impuretés, on met le reste à fondre, puis on distribue et on stérilise.

Ceci établi, prenons des spores de *D. mucoroides* dans la culture pure mixte, diluons dans l'eau ordinaire stérilisée et avec un tampon de coton stérile imbibé de cette dilution, suivant la technique que Metchnikoff a employée pour la séparation du vibrion cholérique, frottons successivement la surface de la gélose à la graine de lin contenue dans 3 boîtes de Pétri. Ayant opéré ainsi, si nous examinons au bout de 3 jours nos plaques placées à la température de 22°, nous verrons que seulement là où il y a une colonie bactérienne, les spores ont germé, des myxamibes se sont formées qui ont édifié des appareils de fructification.

Dans les autres points, où il n'y a pas eu de développement

bactérien, les spores sont parfaitement conservées, n'ayant pas germé. Devons-nous, comme l'ont fait Nadson, Potts, Vuillemin, considérer ces spores comme pures ?

Nullement. En effet, si nous ensemençons ces spores dans du bouillon, nous voyons au bout d'un temps plus ou moins long, généralement 6 à 8 jours, le bouillon se troubler et devenir fluorescent. Nadson, Potts, Vuillemin, n'ont pas tenu compte des germes qui pouvaient se rajeunir : ceci explique, comme nous allons le voir, certaines de leurs observations.

Je devais chercher à obtenir des spores pures.

Pour cela, comme le Bacille fluorescent ne possède pas de spores, on peut employer divers procédés.

On peut soumettre les spores de *D. mucoroides* à l'action des vapeurs d'éther ou de chloroforme.

J'ai mis à profit le fait que le Bacille fluorescent associé était tué en milieu humide à une température de 50° prolongée pendant une heure. Dans les mêmes conditions, 80 0/0 des spores de *D. mucoroides* sont encore capables de germer.

Il est possible aussi de purifier les spores de *D. mucoroides* par un chauffage de 2′ à 56°. On les met en suspension dans l'eau ordinaire et on enferme le tout dans des tubes capillaires. Les spores un peu âgées, d'au moins huit jours, sont les plus résistantes.

Des spores ainsi purifiées peuvent être mises sur tous les milieux de culture et ne germent jamais. Elles ne germent que si on leur adjoint une Bactérie convenable. On vérifie ainsi d'une manière absolue que les spores de *D. mucoroides* ne germent qu'en présence d'une Bactérie.

Les cultures pures de Nadson, le début de développement sans Bactéries observé par Vuillemin s'expliquent par une légère culture bactérienne arrêtée par l'action nocive des produits excrétés par le Myxomycète, notamment du mucus, et aussi, comme nous le verrons, par sa bactériophagie.

L'expérience suivante que j'ai faite avec le D[r] Dujardin-Beaumetz est particulièrement démonstrative.

Des spores pures de *D. mucoroides* furent ensemencées sur carotte avec une grande quantité de Bacilles de la peste provenant d'une culture jeune sur gélose. La quantité de Bacilles déposés sur la carotte était visible à l'œil nu. Dans ces conditions,

au bout de 5 jours, la carotte était recouverte d'abondantes fructifications de *D. mucoroides*.

On sait la fragilité du Bacille de la peste; un ensemencement pratiqué dans du bouillon avec le contenu de la carotte demeura stérile L'examen terminal nous donnait donc une culture pure, sans aucun doute, analogue à celles de Nadson. Les cultures de Nadson étaient étiques parce qu'il n'y avait eu qu'un faible développement de Bactéries; ici les cultures étaient luxuriantes, parce que nous avions mis une grande quantité de Bacilles de la peste.

Ce qui d'ailleurs aurait dû mettre en garde les auteurs qui ont cru obtenir une culture pure, c'est que de telles cultures ne sont pas repiquables. Or, les spores sont parfaitement normales; il suffit d'ensemencer en même temps une Bactérie convenable pour avoir d'autres cultures.

Ainsi les spores du *D. mucoroides* se comportent comme les kystes des Amibes. En effet, Frosch (10), puis Zaubitzer (36), qui ont réussi à purifier des kystes d'Amibes par l'action de la soude caustique à 20 0/0, n'ont pu obtenir de cultures d'Amibes qu'en ajoutant aux kystes, sur les milieux où ils les ensemençaient, des Bactéries vivantes. Les résultats de Tsujitani (32), qui serait parvenu à cultiver des Amibes avec des Bactéries tuées à une température peu élevée, n'ont pas été confirmés. Tsujitani, pour purifier ses kystes, employait le vieillissement et la dessiccation. Ses cultures n'étaient dues vraisemblablement qu'à un rajeunissement des germes.

Potts dit aussi qu'il a réussi à cultiver *D. mucoroides* avec des corps de *Bacterium fimbriatum* tués par le chloroforme, mais la pureté des spores qu'il ensemençait était illusoire. L'ensemencement sur milieux solides ne peut servir de vérification.

Je suis parvenu à avoir un léger début de culture des spores pures de *D. mucoroides* en opérant de la façon suivante :

Un flacon de 250 grammes de capacité environ, à large ouverture, est rempli à moitié avec un milieu nutritif liquide, (milieu minéral de Gessard, milieu à la dextrine). On y fait plonger un sac de collodion porté à l'extrémité d'un tube. Ce tube est fermé par un bouchon de coton et est maintenu dans le goulot du flacon à l'aide d'un fort tampon d'ouate.

Le tout est stérilisé à 110° à l'autoclave. On ensemence

alors le liquide extérieur avec du *Bacillus fluorescens* et l'on sème des spores pures de *D. mucoroides* à l'intérieur du sac. Dans ces conditions, on observe la germination des spores de *D. mucoroides*, mais les amibes formées ne tardent pas à s'arrondir; leur protoplasme devient clair et vitreux; elles se détruisent. J'ai ajouté dans le sac des corps de *Bacillus fluorescens* tués de diverses manières (à 56° en 2', avec de l'éther, avec du chloroforme, etc.) sans résultat. Les myxamibes n'ont jamais évolué.

En résumé, le *D. mucoroides* ne peut vivre qu'en association avec une Bactérie vivante. Toutes les Bactéries ne conviennent pas également; on conçoit qu'à ce point de vue la composition du milieu de culture ait une grande importance. Suivant le substratum employé, les diverses Bactéries peuvent donner des produits différents.

Il y a donc lieu d'étudier maintenant l'action réciproque du milieu de culture et de la Bactérie associée sur le développement de *D. mucoroides*.

INFLUENCE DU MILIEU DE CULTURE ET DE LA BACTÉRIE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE *Dictyostelium mucoroides*.

Nous verrons immédiatement l'influence du milieu de culture, si nous ensemençons la culture pure mixte de *D. mucoroides* sur la pomme de terre. Sur ce milieu, quelle que soit la Bactérie associée, on n'observe aucune culture de l'Acrasiée. Avec la plupart des Bactéries, il en est de même sur la gélose au bouillon de viande, sur gélose peptonée, si on n'y ajoute pas de sucres (lactose, maltose, glucose). Toutefois *B. mégatherium* permet le développement à condition d'être associé avec une autre Bactérie, *B. fluorescens* par exemple.

Au début de mes expériences, j'avais cru que c'était le développement exagéré des Bactéries qui nuisait à celui du Myxomycète.

En effet, les observations de Chrzaszcz (5), sur une myxamibe de *Physarum leucophæum* (*Physarum nutans* Pers), qui se nourrit de levures, avaient montré que dans ses cultures, très impures d'ailleurs, quand l'un des deux organismes devenait florissant, l'autre était étouffé.

Cette conception du phénomène n'est que relativement exacte. Chrzaszcz ne s'est pas occupé dans ses recherches des germes étrangers et de la variation de composition du milieu de culture. Si une Bactérie ou une Levure sur un substratum donné produisent quelques substances nuisibles au Myxomycète, il est évident que plus leur végétation sera luxuriante, moins ce dernier pourra vivre.

Au contraire, constituons un milieu tel que la Bactérie ou la Levure s'y développent très abondamment sans donner de produits nocifs, le rendement de la culture du Myxomycète sera proportionnel à celui de la culture de la Bactérie ou de la Levure. Les myxamibes, qui sont mobiles, évitent en effet très bien l'étouffement en montant à la surface des colonies microbiennes. Ces conditions favorables sont réalisées dans la culture pure mixte du *D. mucoroides* avec *B. fluorescens* sur la gélose à la graine de lin. Sur ce milieu, la Bactérie donne une riche culture et le rendement de la récolte de *D. mucoroides* est maximum.

Maintenant, constituons un milieu de la manière suivante :

1° Gélose à l'eau à 3 0/0. Répartir dans les vases de culture et stériliser;

2° Ajouter dans chaque vase de culture, parties égales de la solution suivante stérilisée :

Dextrine 15 grammes, azotate de calcium 2 grammes, phosphate monobasique de potasse 0, 50, azotate de potasse 0, 50, sulfate de magnésie 0,50. Eau 300.

Sur ce milieu, la culture du *B. fluorescens* est tout aussi riche, mais celle de *D. mucoroides* est beaucoup moindre et elle est d'autant moindre que le *B. fluorescens* s'est plus développé. On apprécie nettement ce fait dans les cultures successives.

Dans les premières cultures, la Bactérie non acclimatée au milieu pousse moins bien et le Myxomycète donne une végétation satisfaisante. Dans les cultures filles, les Bactéries acclimatées se multiplient davantage, les fructifications de *D. mucoroides* mettent un temps beaucoup plus long à se former et sont rares, souvent même la fructification avorte. On note parfois une sorte de transformation de *D. mucoroides* en Guttuline : le pied ayant complètement avorté, il se forme seulement à la surface du substratum une petite gouttelette de mucus contenant les spores; à la base existent de grandes amibes vacuolaires, plus

ou moins arrondies, qui ont une ébauche de paroi cellulosique, se colorant en bleu par l'action de l'acide iodhydrique fumant iodé.

Sur la gélose à la graine de lin, ainsi que sur d'autres milieux (carotte, gélose peptonée et sucrée), j'ai pu réaliser par l'ensemencement des spores pures de *D. mucoroides* avec diverses espèces de Bactéries, des cultures pures mixtes.

On peut obtenir de telles cultures avec *Bacillus coli*, *Bacillus friedlænderi*, *Bacillus kieli*, *Bacillus prodigiosus*, *Bacillus violaceus*, *Vibrio choleræ*, *Vibrio metchnikovi*, et en général avec la plupart des Bactéries qui ne prennent pas le Gram, à l'exception de *Bacillus pyocyaneus*.

Cependant la variété noire de ce dernier Bacille, variété étudiée par Gessard, permet la culture. Elle ne donne pas de tyrosinase en association.

Les Bactéries qui prennent le Gram, comme *Bacillus subtilis*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus anthracis*, ne conviennent pas; s'il y a culture, c'est qu'il y a association avec une Bactérie étrangère

L'association de deux Bactéries peut même permettre la végétation de *D. mucoroides* sur des milieux où il ne vit pas en culture pure mixte. C'est ainsi que *Bacillus megatherium* permet la culture *D. mucoroides* avec *B. fluorescens* sur la gélose de viande.

Lorsque, dans une culture pure mixte de *D. mucoroides* avec *B. fluorescens*, on ajoute *B. subtilis*, on observe généralement que les pieds des appareils sporifères sont plus longs et qu'il y a fréquemment des formes ramifiées. Il est certain qu'il n'est pas indifférent, pour la morphologie de l'Acrasiée, que le Myxomycète soit associé avec telle ou telle Bactérie; nous en verrons des exemples en étudiant l'action des pigments des Bactéries chromogènes sur le *D. mucoroides ;* mais auparavant nous devons nous demander quels sont les rapports réciproques de la Bactérie et de l'Acrasiée dans une culture pure mixte. Y a-t-il commensalisme, symbiose ou parasitisme?

PARASITISME DU *Dictyostelium mucoroides* SUR LES COLONIES BACTÉRIENNES. — DIGESTION DES BACTÉRIES A L'INTÉRIEUR DES VACUOLES DE SES MYXAMIBES.

Prenons, comme milieu de culture, le liquide de condensa-

tion d'un tube de gélose à la graine de lin et examinons, *in vivo*, en gouttes pendantes, dans une cellule de Van Tieghem, le développement d'une culture mixte de *D. mucoroides* avec *B. fluorescens*.

Aussitôt après la germination, la jeune myxamibe conserve encore quelque temps adhérente la membrane déchirée de la spore. Puis elle s'arrondit et présente une ou deux vacuoles, rarement davantage. S'il n'y a qu'une seule vacuole, elle est plus grande. L'observation de ces vacuoles montre qu'à certains moments elles peuvent se contracter; mais cette contraction n'est qu'occasionnelle et n'a pas la régularité de celle de la vacuole pulsatile des Amibes. Lorsque les myxamibes sortent de leur quiescence, leur protoplasme se différencie en un endoplasme granuleux plus ou moins vacuolaire et en un ectoplasme hyalin qui émet des pseudopodes. Les pseudopodes peuvent être très fins ou au contraire en forme de doigt de gant.

Diaphragmons l'éclairage du microscope et examinons à un fort grossissement, à l'immersion, nous verrons que les Bactéries s'agglutinent autour des myxamibes, se disposant perpendiculairement à leur ectoplasme, ou bien formant tout à l'entour de petits paquets étoilés.

Il s'agit là d'un phénomène assez analogue à celui que Mouton (20) a observé autour de la vacuole pulsatile d'une Amibe. Mouton a vu en effet que chez une Amibe en culture pure mixte avec *B. coli*, les Bacilles s'agglutinaient au voisinage de la vacuole pulsatile.

A l'intérieur des vacuoles, nous distinguerons des granulations plus ou moins réfringentes et des Bactéries en plus ou moins grand nombre. Parfois il n'y a qu'une seule Bactérie dans une vacuole.

Les myxamibes grossissent; puis elles se divisent en deux individus égaux. Ceux-ci ne tardent pas à devenir très vacuolaires, rampent vivement à la surface du substratum, émettent des pseudopodes parfois très longs; c'est alors qu'il est le plus facile de voir les Bactéries incluses dans les vacuoles. Ce stade de vie active survient dans les cultures de la 30ᵉ à la 40ᵉ heure.

En employant des techniques de coloration appropriées, il

est aisé de suivre alors toutes les phases de la digestion des Bactéries à l'intérieur des vacuoles des myxamibes de *D. mucoroides*.

On peut faire cet examen soit *in vivo*, soit sur des préparations fixées.

Le Neutralroth, déjà employé par Metchnikoff pour teindre les inclusions des vacuoles digestives chez les Turbellariées et les Actinies, par Mouton chez les Amibes, est certainement le colorant de choix pour la coloration *in vivo*. En effet, non seulement il colore les Bactéries en voie de digestion, mais aussi par la propriété qu'il possède de virer en jaune dans les milieux très alcalins et au contraire du rouge cerise au rouge pourpre dans les milieux acides, il renseigne sur la réaction alcaline ou acide du liquide des vacuoles.

Ce réactif ne colore que les éléments morts; aussi ne colore-t-il dans les myxamibes, en rouge foncé, que les Bactéries en voie de digestion et les granulations qui proviennent de leur destruction.

La coloration rouge foncé nous indique que le liquide des vacuoles est plus acide que le milieu extérieur. S'il y a un excès de colorant, les myxamibes seront tuées et finiront par se colorer.

La vésuvine permet aussi de bonnes colorations *in vivo* des Bactéries incluses dans les vacuoles des myxamibes.

Les préparations fixées et colorées nous donnent le moyen d'étudier ce que deviennent les Bactéries en voie de digestion dans les vacuoles digestives, à condition que la méthode de coloration employée donne le maximum de différenciation.

Comme pour les Amibes, la méthode qui donne les meilleurs résultats est celle de Laveran.

Un peu d'une culture sur graine de lin datant de 36 heures est dilué dans une goutte d'eau ordinaire sur un porte-objet. Cette goutte est étalée. On laisse sécher, puis on fixe à l'alcool absolu 10 minutes.

Ensuite on colore par le mélange de Laveran :

4 c. c. à 1 0/00 d'éosine à l'eau (de la fabrique de Höchst);

6 c. c. d'eau distillée.

1 c. c. de bleu Borrel.

Le bleu Borrel sera commodément préparé en mettant pour 100 grammes d'eau distillée : 1 gramme d'oxyde d'argent et

1 gramme de bleu de méthylène médicinal de Höchst. Il est bon de conserver dans un flacon jaune pour éviter la réduction du sel d'argent par la lumière. On laissera trois semaines en contact, en ayant soin d'agiter de temps à autre. Puis on filtrera. Le bleu peut être prêt beaucoup plus tôt, si on met le flacon à l'étuve à 37°. Cela dépend d'ailleurs beaucoup aussi de la qualité du bleu de méthylène.

Une fois la coloration effectuée, elle demande de 15 à 20 minutes, on différencie par le tannin en solution à 5 0/0.

Sur des préparations ainsi faites, l'endoplasme prend une couleur bleu violacé, l'ectoplasme se colore en bleu et les microbes en violet foncé. Le noyau, dont pour l'instant je laisserai de côté la morphologie, prend une coloration pourpre.

Les Bactéries incluses dans les vacuoles sont bien mises en évidence. Tandis que celles qui sont à l'extérieur des cellules prennent la couleur d'une manière intense, la plupart des Bactéries englobées sont gonflées et prennent une couleur très pâle. Parfois, prenant davantage l'éosine, elles sont plus rouges et on peut observer tous les passages entre des Bactéries d'un rouge violacé et les granulations qui se colorent en rouge, puis entre des Bactéries très pâles et des granulations qui prennent à peine la couleur. (Pl. II, fig. 26-30).

Si nous examinons de la même manière une culture mixte avec le vibrion cholérique, nous n'observerons pas la mise en boule des vibrions à l'intérieur des vacuoles des myxamibes, comme on l'observe à l'intérieur des leucocytes dans le phénomène de Pfeiffer.

Les faits que je viens d'exposer concordent sensiblement avec les observations d'Olive (23), de Vuillemin, mais sont complètement en désaccord avec celles de Grimm et de Potts.

Ce dernier auteur n'a pas vu les Bactéries à l'intérieur des vacuoles de *D. mucoroides* parce que sa technique de fixation et de coloration était insuffisante.

La Bactérie associée dans ses cultures, le *Bacterium fimbriatum* Potts, dont il donne d'ailleurs une description morphologique assez incomplète, serait bien spéciale. Elle se colorerait seulement par le violet de gentiane et ne colorerait pas par le bleu de méthylène, le vert de méthyle, même la fuchsine.

Potts colore ses préparations de myxamibes par le violet de

gentiane après fixation à l'alcool. Dans ces conditions, il colore les Bactéries extérieures, tandis qu'il ne colore pas les corpuscules contenus dans les amibes. Ce résultat s'explique très bien par un défaut de fixation. Dans une préparation mal fixée en effet, le violet de gentiane, qui est un colorant énergique, colorera les Bactéries extracellulaires tandis qu'il ne colorera rien de ce qui est dans l'amibe ; nous avons vu d'ailleurs que les Bactéries incluses sur des préparations bien fixées ne prennent souvent qu'une couleur très pâle parce qu'elles sont en voie de digestion.

Potts, n'ayant pas vu l'englobement des Bactéries par les amibes de *D. mucoroides*, admet l'existence d'une diastase extracellulaire. Pour cela Potts se fonde sur ce que : 1° dans des cultures faites avec *B. megatherium* on observe des formes d'involution et de destruction de cette Bactérie dans les colonies où se développe l'Acrasiée ; 2° les colonies du *B. fimbriatum* sur lesquels vit *D. mucoroides* deviennent plus claires ; 3° si on numère le nombre des colonies obtenues d'une part en partant d'une colonie de *B. fimbriatum* normale, d'autre part en partant d'une colonie identique sur laquelle *D. mucoroides* a fructifié, on obtient dans le premier cas 836 millions de Bactéries et dans le second seulement 19 millions. Il constate en outre, dans une culture de *D. mucoroides* avec *B. fluorescens* var *liquefaciens*, que la Bactérie ne donne pas son pigment caractéristique dans les colonies où végète *D. mucoroides*.

Devons-nous considérer ces faits comme la preuve que *D. mucoroides* se nourrit à l'aide d'une diastase extracellulaire ? Potts a négligé la modification du milieu, la sécrétion de mucine par les myxamibes de *D. mucoroides*, les phénomènes d'autolyse des Bactéries. Ce sont ces facteurs qui expliquent les formes d'involution des Bactéries et l'éclaircissement des colonies.

ÉTUDE DE LA DIASTASE INTRACELLULAIRE DE *Dictyostelium mucoroides*.

Nous venons de voir que les myxamibes de *D. mucoroides* se nourrissent par digestion dans leurs vacuoles de Bactéries englobées : à ce point de vue, contrairement à ce qu'ont cru certains auteurs, le *Dictyostelium mucoroides* ne diffère pas des autres Myxomycètes. Comme eux, il possède une diastase intra-

cellulaire. Depuis les travaux de de Bary (1), Celakowsky (4), Lister (14), Metchnikoff (18), nous savons que chez les Myxomycètes endosporés, les zoospores, les myxamibes et les plasmodes sont capables d'ingérer et de digérer dans les vacuoles de leur protoplasme des Bactéries, des Algues, etc. Lister a bien décrit le processus. Par exemple, il a vu une zoospore de *Chondrioderma* (*Didymium*) *difforme* digérer complètement deux grands Bacilles dans l'espace d'une heure et demie. Ces Bacilles avaient été saisis par les pseudopodes de la zoospore, entraînés dans l'intérieur de leur protoplasme et là, logés dans les vacuoles, Lister les a vus devenir de moins en moins visibles et s'y dissoudre.

Metchnikoff en faisant ingérer des grains de tournesol finement pulvérisés à des plasmodes de Myxomycètes a démontré que le liquide des vacuoles est acide. Nous avons vu, en prenant comme réactif le rouge neutre, qu'il en est de même pour les vacuoles de *D. mucoroides*. Devons-nous conclure avec Krukenberg que la diastase protéolytique qu'elles renferment est une pepsine? A l'exception du travail primordial de Krukenberg (13) et de celui plus récent de Schrœder (29), faits tous deux en prenant comme matériel d'études *Æthalium septicum*, aucune étude n'a été faite de la diastase intracellulaire des Myxomycètes. Or les travaux de ces deux auteurs ont à leur base une cause d'erreur qui n'est pas négligeable, comme j'aurai l'occasion de le démontrer : c'est la quantité énorme d'impuretés que renferment les plasmodes des Myxomycètes.

J'ai profité de ce que je pouvais associer au *Dictyostelium mucoroides* une Bactérie très peu protéolytique, qui ne liquéfie pas la gélatine, qui ne s'autolyse pas, comme le *Bacillus coli*, pour chercher à extraire la diastase intracellulaire de l'Acrasiée.

Dans ce but, j'ai, ainsi que l'avait fait Mouton pour la diastase intracellulaire des Amibes, ensemencé de grandes boîtes contenant de la gélose à la graine de lin, avec le *D. mucoroides* associé avec le *B. coli*.

Comme il est nécessaire, pour avoir une riche récolte de *D. mucoroides*, que la gélose soit humide et en couche épaisse, j'ai employé des boîtes analogues à celles de Roux mais dont l'une des faces porte une excavation pour loger la couche de gélose.

Pour plus de commodité dans l'opération de la récolte, ces boîtes, construites en collaboration avec M. Bridré, ont été faites en forme de triangle équilatéral. Cette forme permet de racler toute la surface de la boîte.

Les boîtes sont mises à l'étuve à 22° et la récolte est effectuée au moment où l'on voit le plus nettement chez les myxamibes l'englobement des Bactéries et leur digestion dans les vacuoles, c'est-à-dire vers la 40e heure.

Les myxamibes produisant du mucus adhèrent très fortement à la gélose et il est très difficile, sinon impossible, de les mettre en suspension dans l'eau. Le mieux est de les récolter à sec avec une petite raclette spécialement construite pour ne pas entamer la gélose.

La pâte formée par les amibes et les Bactéries est traitée par l'alcool absolu et rapidement évaporée dans le vide.

Il faut dix boîtes environ pour recueillir 0gr,005 sec. La substance sèche est pulvérisée dans un mortier et les 0gr,005 sont mis dans 5 c. c. d'eau. Le liquide obtenu est neutre ou très légèrement acide. On filtre sur papier, on centrifuge ; le liquide décanté dans le tube de centrifugation est encore un peu louche, mais il ne tarde pas à s'éclaircir. J'examinerai l'action de ce liquide diastasique succcessivement sur la gélatine, sur la fibrine, sur les corps de Bactéries, sur l'albumine.

Action sur la gélatine.

Mes recherches ont été faites avec de la gélatine à 20 0/0 que je ramenais à 10 0/0 par l'addition de liquide diastasique. Les expériences étaient faites dans de petits tubes à essais. Comme antiseptiques, ceux qui donnent le meilleur résultat sont le fluorure de sodium à 1 0/0, le chloroforme. Dans mes premières expériences, j'avais employé le xylol ; mais je me suis aperçu que le xylol n'offre aucune garantie et que le Staphylocoque peut végéter dans de la gélatine sous une couche de xylol.

Dans un tube mettons quantités égales de liquide diastasique et de gélatine fluorée amenée à être neutre à la phénolphtaléine.

Dans un autre tube mettons quantités égales de la même gélatine avec du même liquide diastasique porté 5′ à 100°.

Les deux sont mis à l'étuve à 37°. On les examine au bout de 20 heures en les plongeant dans la glace.

Tandis que le tube qui contient le liquide diastasique non chauffé reste indéfiniment liquide, l'autre fait prise presque immédiatement.

On peut conclure de là que la diastase intracellulaire du *Dictyostelium mucoroides* — nous la désignerons sous le nom d' « acrasidiastase, » — liquéfie la gélatine, puisque le *B. coli* est sans action sur celle-ci.

Il est indispensable de savoir quelle réaction du milieu est la plus favorable pour la digestion de la gélatine par cette diastase.

En effet, il est intéressant de connaître à quel type de diastase nous avons affaire.

On sait que les animaux supérieurs possèdent deux types de diastases protéolytiques, l'une la pepsine qui digère en milieu nettement acide, formant aux dépens des matières albuminoïdes des peptones, l'autre la trypsine qui agit plutôt en milieu alcalin et qui transforme les matières albuminoïdes en peptones et en produits plus simples, tels que la leucine et la tyrosine. L'acrasidiastase est-elle une pepsine ou une trypsine? Si, ainsi que l'a fait Mesnil (17) pour l'étude de l'actinodiastase, nous constituons avec de la gélatine une gamme de milieux dont la réaction va de l'alcalinité à la phtaléine du phénol jusqu'à l'acidité au méthylorange, nous verrons que l'acrasidiastase n'agit que dans les milieux alcalins, neutres ou faiblement acides. A l'acidité au méthylorange, il n'y a plus du tout d'action.

A ce point de vue, l'acrasidiastase se rapproche donc de la trypsine.

L'acrasidiastase est très sensible à l'action de la température; elle est détruite à partir de 55°. En effet, quand elle a été chauffée à cette température, la gélatine à laquelle elle a été ajoutée fait prise presque immédiatement, après une digestion de 20 heures à 37°.

L'acrasidiastase agit à des températures peu élevées. Mais son action est alors très lente; il faut plusieurs jours de digestion à la température du laboratoire pour avoir une liquéfaction appréciable de la gélatine.

Son maximum d'action est vers 38°.

La digestion de la gélatine n'est pas poussée très loin et il n'y a pas formation de peptone.

Action sur la fibrine.

La fibrine que j'ai employée est de la fibrine de porc qui a a été conservée dans la glycérine et que j'ai chauffée pendant 2 heures à 58° dans la solution physiologique de chlorure de sodium.

On sait que cette dernière précaution est absolument nécessaire parce que la fibrine, lors de la coagulation du sang, fixe sur elle une diastase protéolytique capable de la digérer.

La fibrine ainsi préparée est mise dans de petits tubes à essais contenant parties égales de solution physiologique et de liquide diastasique.

Dans les tubes mis à l'étuve, la fibrine devient grise, très friable, mais je ne l'ai jamais vue se dissoudre.

On peut dire que l'action sur la fibrine est presque nulle.

Sur l'albumine coagulée je n'ai obtenu aucune action.

Action sur les Bactéries.

L'acrasidiastase n'agit pas sur les Bactéries tuées par la chaleur. En revanche, si nous les tuons par l'éther ou le chloroforme, elles sont parfaitement dissoutes par le liquide diastasique.

La meilleure manière d'opérer est de faire ce qu'a fait Mouton pour l'étude de l'action de l'amibodiastase sur les corps de Bactéries.

Le meilleur test bactérien à prendre est encore le *Bacillus coli* qui ne s'autolyse pas ; une émulsion de *B. coli* chloroformée reste trouble.

Prenons une telle émulsion et ajoutons-en quelques gouttes à deux tubes : l'un contenant le liquide diastasique normal; l'autre une même quantité de ce liquide bouilli. Ils sont mis à l'étuve à 38°. Or, de ces deux tubes, qui présentaient une égale opacité, l'un, le témoin, après quelques heures d'étuve, est toujours trouble, l'autre est devenu presque complètement transparent.

Il ne s'agit pas là d'un phénomène d'agglutination, car si l'on agite le tube clair, on voit qu'il n'y a aucun dépôt.

Si au lieu de *B. coli*, on prend *B. fluorescens*, l'éclaircissement est beaucoup plus rapide; seulement ici le témoin lui-même finira par s'éclaircir, parce que *B. fluorescens* s'autolyse.

En résumé, l'acrasidiastase se rapproche beaucoup de l'amibodiastase étudiée par Mouton.

Comme elle, elle digère la gélatine en milieu alcalin, neutre ou faiblement acide; elle ne paraît pas donner de peptones aux dépens de la gélatine ; elle n'attaque pas l'albumine coagulée; comme elle, elle ne dissout pas les corps de Bactéries tuées par la chaleur, et au contraire, elle les dissout très bien quand elles sont tuées par le chloroforme. Elle semble en différer par son action sur la fibrine qui est presque nulle. La quantité de diastase contenue dans notre liquide était peut-être trop faible. Il est vrai que l'action de l'amibodiastase sur la fibrine n'est pas non plus très énergique et n'est pas comparable à celle de trypsine.

Ainsi le *Dictyostelium mucoroides* ne peut se développer qu'avec des Bactéries ; il est parasite des colonies bactériennes ; ses myxamibes ingèrent les Bactéries et les digèrent dans leurs vacuoles à l'aide d'une diastase dont l'action est assez semblable à celle de l'amibodiastase.

Ces faits biologiques, que nous venons de constater chez le *D. mucoroides*, ont-ils une portée plus générale ? Observe-t-on les mêmes faits chez d'autres Myxomycètes ? Etudions d'abord ce qui se passe pour deux espèces de la même famille, le *Dictyostelium purpureum* Olive et le *Polysphondylium violaceum* Brefeld.

II

RECHERCHES SUR DEUX AUTRES ACRASIÉES

CULTURES PURES MIXTES DE *Dictyostelium purpureum*

Cette espèce m'a été aimablement envoyée par M. le professeur Thaxter à l'état de spores sur des crottes de souris.

J'ai pu réussir directement une culture par l'ensemencement de parcelles de ces crottes à la surface de gélose à la graine de lin.

En opérant de la même manière qu'avec le *D. mucoroides*, en prélevant avec soin et aseptiquement la gouttelette d'une tête sporifère, j'ai réussi d'autres cultures soit sur la gélose à la graine de lin, soit sur d'autres milieux (carottes, milieu à la dextrine), où le *Dictyostelium purpureum* n'était associé qu'avec une seule Bactérie. Je m'en suis rendu compte par l'ensemencement en bouillon et la séparation par la méthode des plaques. Je n'ai pu faire l'isolement en chauffant les spores et en les ensemençant ensuite avec la Bactérie, parce que les spores du *Dictyostelium purpureum* sont plus fragiles que celles du *Dictyostelium mucoroides* et ne supportent pas en milieu humide une température supérieure à 49°. J'ai dû pour avoir des spores pures employer l'action de l'éther ou du chloroforme.

La Bactérie qui est associée dans les cultures est une Bactérie mobile. Elle a la forme de bâtonnet à bouts arrondis d'une dimension de 1 μ. à 2 μ, 5 de largeur. La longeur est d'environ 0 μ. 4. Elle ne prend pas le Gram. Elle ne se développe pas au-dessus de 35°. Sur plaques de gélatine, les colonies visibles au bout de 2 jours sont rondes, blanches, légèrement surélevées. La gélatine n'est pas liquéfiée. Le bouillon se trouble rapidement ; il se forme un voile à la surface et un léger dépôt muqueux au fond du tube de culture. Le bouillon reste incolore. Sur pomme de terre l'ensemencement donne une strie jaunâtre. Sur gélose, la strie est blanche, grisâtre, avec reflets métalliques. Il était difficile de savoir à quelle espèce de Bactérie j'avais affaire. Toutefois, d'après sa morphologie, d'après quelques caractères de la culture en bouillon, d'après le caractère de la culture sur pomme de terre, je pensais qu'elle devait être voisine de *Bacillus fluorescens*. Aussi, suivant la méthode de Gessard, je fis l'ensemencement sur albumine d'œuf coagulée. L'albumine prit au bout de 3 jours, à la température de 22°, une magnifique fluorescence verte. Sur le milieu d'épreuve de Gessard, elle ne donnait pas de pyocyanine.

Il s'agissait donc d'une variété non liquéfiante de *Bacillus fluorescens* dont la propriété de donner la fluorescence dans les milieux usuels avait disparu.

J'ai constaté depuis que le *Bacilles fluorescens* var. *liquefaciens*, cultivé en association avec le *Dictyostelium mucoroides* depuis plus de 5 ans, ne donne plus de fluorescence ni dans le bouillon

ni sur la gélose. Son pouvoir liquéfiant a également diminué. Par piqûre en gélatine, au lieu d'une liquéfaction assez rapide, on n'a plus qu'une légère collerette de gélatine liquéfiée au bout de 15 jours. Un exemplaire de *Bacillus fluorescens*, var. *liquefaciens* recueilli par M. le Dr Binot au mont Blanc et conservé dans la collection de l'Institut Pasteur, ne liquéfie plus la gélatine actuellement [1]. Il est très probable que toutes les espèces fluorescentes qui ont été créées dans ces derniers temps ne sont que des variétés d'une seule et même espèce, *Bacillus fluorescens*.

Dans mes cultures, le *Dictyostelium purpureum* présente bien les caractères assignés par la diagnose d'Olive. La tête et le pied sont pourpres ou violets ; à maturité ils deviennent presque noirs. Sa coloration est certainement beaucoup plus intense que celle du *Polysphondylium violaceum*. Je n'ai jamais rencontré de formes ramifiées. Le pied peut être très long et dépasse souvent 1 c. c. de hauteur. La tête est en général beaucoup plus grosse que celle du *Dictyostelium mucoroides*, quoique de dimensions variables. Les spores sont ordinairement ovales, mesurant 3μ-5μ sur 5μ-8μ.

On peut constater, comme nous l'avons fait pour le *D. mucoroides*, que les spores pures de *Dictyostelium purpureum* ne germent que si on leur adjoint une Bactérie convenable. Comme pour le *D. mucoroides*, toutes les Bactéries ne conviennent pas également et ce sont les *B. coli*, *B. fluorescens* qui donnent les cultures les plus abondantes. *D. purpureum* pousse mieux sur les milieux peptonés et sur le milieu à la dextrine que *D. mucoroides*.

Le *Dictyostelium purpureum* comme le *D. mucoroides* est parasite sur les colonies bactériennes.

Répétons en effet la même expérience qu'avec *D. mucoroides*.

Prenons des spores d'une culture pure mixte de *D. purpureum* et une fois mises en suspension dans l'eau stérilisée, répartissons-les en employant la même technique que précédemment sur la surface de trois boîtes Petri contenant de la gélose à la graine de lin. Sur les plaques placées à l'étuve

1. Une autre culture fournie également par le M. Dr Binot et ensemencée, non plus en gélatine par piqûre, mais sur gélatine dans des boîtes de Petri, de manière à avoir des colonies isolées, donne des colonies qui deviennent incrustantes seulement au bout d'un temps assez long, huit jours environ, sans qu'il y ait jamais liquéfaction totale.

à 22°, nous verrons, ordinairement au bout de 4 à 5 jours, qu'il n'y a eu de développement et formation d'appareils sporifères que là où il y a des colonies bactériennes.

Dans les vacuoles des myxamibes de *Dictyostelium purpureum*, comme dans celles de *D. mucoroides*, on voit des Bactéries en voie de digestion, soit que l'on examine *in vivo* avec le neutralroth ou la vésuvine, soit que l'on examine des préparations fixées et colorées. (Pl. XV, fig. 1-3.)

Pour étudier la diastase protéolytique contenue dans les vacuoles de *D. purpureum*, j'ai suivi la même méthode que pour étudier l'acrasidiastase de *D. mucoroides*.

Avant d'exposer le résultat de ces recherches, je désire attirer l'attention sur un fait intéressant, fait que l'on ne rencontre pas chez *D. mucoroides*.

D. mucoroides associé à des Bactéries qui ne liquéfient pas la gélatine comme *B. coli*, *B. fluorescens* var *non liquefaciens*, *B. fimbriatum* (d'après Potts), en culture pure mixte sur gélatine à la graine de lin (le milieu est préparé comme la gélose; on met 15 0/0 de gélatine), n'a aucune action sur ce milieu; au contraire les colonies de *D. purpureum* avec *B. fluorescens* var *non liquefaciens* ou avec *B. coli* ne tardent pas sur ce milieu à s'entourer d'une collerette de liquéfaction. Ce fait est à rapprocher d'une observation de Beyerinck sur *Amœba zymophila*. Cette espèce d'Amibe rencontrée en association avec des Levures avait été isolée de raisins attaqués par des guêpes et en voie de fermentation spontanée. En employant comme milieu de culture l'extrait de malt gélatiné, l'auteur parvint à obtenir cet Amibe en culture pure mixte soit avec une levure, soit avec un ferment acétique.

Or, tandis que ni la levure ni le ferment ne liquéfient la gélatine, la liquéfaction se produit très rapidement avec les Amibes.

Ici, comme *Amœba zymophila* ne possède pas de vacuole pulsatile, la diastase ne peut provenir d'un liquide rejeté par l'amibe; elle doit donc sortir de l'amibe soit par osmose, soit par expulsion avec des résidus de digestion.

Les myxamibes de *D. purpureum* ont la même structure que celles de *D. mucoroides*. Peut-être le mucus excrété fixe-t-il de la diastase dans un cas et n'en fixe pas dans l'autre, à cause d'une légère différence de composition?

Si l'on ensemence *D. purpureum* avec le *B. fluorescens* non liquéfiant, dans le lait, il y a végétation de l'Acrasiée et en même temps acidification et coagulation du lait. Or la variété non liquéfiante de *B. fluorescens* ne coagule pas le lait, et le lait de culture est alcalin. On doit donc voir encore là le fait d'une diastase de *D. purpureum*.

Si nous préparons un extrait diastasique de *D. purpureum*, nous verrons que cette nouvelle acrasidiastase se comporte de la même façon que celle de *D. mucoroides*.

Son maximum d'action est vers 38° ; elle digère la gélatine en milieu alcalin, neutre ou légèrement acide. Elle a peu d'action sur la fibrine. Elle ne digère pas l'albumine coagulée par la chaleur, les corps de Bactéries tuées par la chaleur. Elle dissout les Bactéries tuées par l'éther ou le chloroforme.

CULTURES PURES MIXTES DE *Polysphondylium violaceum*.

J'ai pu étudier cette espèce, grâce à une culture faite par Olive, qui m'a été obligeamment transmise par M. le professeur Thaxter. Cette culture n'étant pas une culture pure mixte, il y avait diverses Bactéries associées.

En opérant comme je l'ai fait pour les deux autres Acrasiées, j'ai eu la culture pure mixte de *P. violaceum* avec la variété non liquéfiante de *B. fluorescens*, semblable à celle qui se trouvait avec *D. purpureum*.

P. violaceum croît bien sur divers milieux, sur gélose à la graine de lin, sur agar peptoné et sucré ; mais le milieu sur lequel il donne une culture vraiment luxuriante est le milieu à la dextrine. Les tubes sont remplis d'un véritable lacis de fructifications.

On peut avoir des cultures pures mixtes de *P. violaceum* avec diverses Bactéries. Il ne diffère pas à ce point de vue des deux autres Acrasiées.

Sa culture pure mixte avec *B. fluorescens* non liquéfiant, sur gélatine à la graine de lin, se comporte comme celle de *D. purpureum ;* il y a liquéfaction. De même la culture faite dans le lait le coagule. Les mêmes observations peuvent se faire sur la digestion des Bactéries dans les vacuoles des myxamibes en employant les mêmes techniques de coloration que pour les deux autres espèces. (Pl. III, fig. 4-7.)

L'agglutination des Bactéries autour des myxamibes de *P. violaceum* est beaucoup plus intense qu'autour de celles de *D. mucoroides* et de *D. purpureum*.

Presque toujours un grand nombre de Bactéries agglutinées accompagnent les myxamibes lors de la formation de l'appareil sporifère. Ces Bactéries plongées dans la gaine muqueuse qui entoure le pied se placent perpendiculairement aux cellules du pied, si bien qu'à un examen superficiel on pourrait croire le pied hérissée de cristaux. Souvent aussi les Bactéries forment de véritables amas au niveau des ramifications.

L'extrait diastasique préparé à partir des myxamibes de *P. violaceum* est identique à l'acrasidiastase isolée précédemment : même action sur la gélatine, sur les corps de Bactéries tuées par le chloroforme ; action presque nulle sur la fibrine : action nulle sur l'albumine coagulée par la chaleur.

ACTION DE QUELQUES CONDITIONS EXTÉRIEURES : OXYGÈNE, HUMIDITÉ, LUMIÈRE.

Les espèces d'Acrasiées que nous venons d'étudier sont strictement aérobies.

En anaérobiose, avec des Bactéries anaérobies, on n'observe aucun développement.

Il suffit d'ailleurs de fermer à la lampe un tube où se développe une culture pure mixte pour arrêter le développement.

L'humidité est nécessaire pour l'obtention des cultures. Elle influe beaucoup sur la morphologie de l'appareil sporifère. En milieu peu humide, les pieds sont courts, les têtes petites. Au contraire, en milieu humide, les pieds sont plus longs et les têtes beaucoup plus grosses.

Lorsque le milieu est très humide, ce qui se produit dans les cultures sur carottes en tubes de Roux, quand il y a beaucoup de liquide dans le fond, les têtes sporifères peuvent devenir plus de deux fois plus grosses. Dans ce cas, le mucus qui entoure les spores est dilué ; il se dépose au bas de la gouttelette et la tête offre une partie supérieure transparente et une partie inférieure opaque.

A l'obscurité, les appareils sporifères sont toujours perpendiculaires au substratum. Ce fait est dû vraisemblablement, comme le pense Olive, à une hydrotaxie négative.

A la lumière, il y a phototaxie positive et si, par exemple, une culture est disposée de manière à avoir une portion obscure et une portion éclairée, les pieds s'allongeront vers la partie éclairée. On peut obtenir ainsi un allongement assez considérable des fructifications, comme le montre la photographie ci-jointe d'une culture de *D. purpureum*. La flèche indique le sens de la lumière. (Pl. XIII, fig. 1.)

La température qui convient le mieux pour la culture de ces Acrasiées est comprise entre 22° et 25°.

A partir de 28°, il n'y a plus de développement. Au contraire les températures même basses jusqu'à 8° peuvent convenir ; seulement la durée du développement est beaucoup plus grande, demandant, vers 8°, plusieurs semaines.

Certaines conditions extérieures influent aussi sur la variation des caractères spécifiques d'une Acrasiée.

Par suite de la chaleur de l'été de 1906 et d'un accident survenu à l'étuve, mes cultures de *D. mucoroides* se sont trouvées pendant plusieurs semaines à une température de plus de 40°. Alors, sur 20 tubes ensemencés, quoique j'y aie ajouté *B. fluorescens*, deux tubes seulement ont donné une culture.

Dans ces cultures, au lieu du pied long et flexueux des fructifications produites dans les cultures pures mixtes de *D. mucoroides* avec *B. fluorescens* sur graine de lin, les pieds sont extrêmement petits, n'ayant souvent même pas 1 millimètre de hauteur. La tête est plus grosse. Les spores ont de 3 à 4 μ sur 4 à 5 μ.

Les cultures repiquées depuis septembre 1906 ont conservé ces caractères qui sont très voisins de ceux du *Dictyostelium brevicaule* Olive.

ÉTUDE DE L'ACTION DES PIGMENTS BACTÉRIENS

Matruchot (15) a montré que les pigments bactériens peuvent être employés pour la coloration d'organismes à l'état vivant. En faisant végéter simultanément sur un même milieu une Bactérie chromogène et un Champignon filamenteux, on obtient une imprégnation du protoplasme du Champignon par le pigment sécrété hors de la Bactérie. Cette action de la matière colorante

est élective, le pigment ne se fixe que sur une partie du protoplasme. Les pigments fongiques, à condition qu'ils soient excrétés en dehors du Champignon chromogène, se comportent de la même manière que les pigments bactériens.

Je résumerai brièvement ici les résultats obtenus par Matruchot (15) de manière à mettre en parallèle ceux que donne la même méthode pour l'étude du *Dictyostelium mucoroides*.

En cultivant *Mortierella reticulata* avec *Bacillus violaceus* ou avec *Fusarium polymorphum*, Matruchot vit que le pigment de la Bactérie ou du Champignon se fixe sur le protoplasme et que cette coloration permet de déceler une structure particulière du protoplasme de *Mortierella reticulata*. En effet, tandis que la partie jeune des filaments, à l'extrémité en voie de croissance par exemple, ne présente aucune structure différenciée du protoplasme (on y voit seulement de très fins granules), les parties moyennement âgées du mycélium offrent une structure intéressante. Dès que le protoplasme n'est plus très jeune et cesse d'être homogène, il se fait une séparation de deux protoplasmes différents : 1° un protoplasme parfaitement hyalin, indifférent au réactif colorant, constituant une sorte de hyaloplasme; 2° un protoplasme légèrement granuleux fixant la matière colorante et au milieu duquel se forment des gouttelettes huileuses de plus en plus abondantes, qui, plus fortement encore que le protoplasme, fixent le réactif colorant. Ce protoplasme granuleux correspond à l'enchylema de certains auteurs. Enfin, dans l'enchylema, le pigment vert du Fusarium et surtout la violacéine de *B. violaceus* coloraient de petits corps que l'auteur assimile sous réserve à des noyaux. Car même lorsque la coloration est nettement accusée, ce pseudo-noyau se montre constitué uniquement par un granule colorable de dimensions variables (0 μ, 5 de diamètre en moyenne) et, quel que soit le grossissement employé, on ne peut y distinguer la structure caractéristique : membrane enveloppante, zone claire périphérique nucléole central.

En résumé les pigments bactériens et fongiques permettent de colorer chez *Mortierella reticulata* les cordons d'enchylema, les gouttelettes d'huile et sans doute aussi le nucléole central des noyaux.

Voyons ce qui se produira si nous associons par exemple

Dictyostelium mucoroides avec une bactérie chromogène comme *Bacillus kieli*.

Il y a lieu de distinguer deux cas : ou bien le milieu de culture est très favorable au développement de la Bactérie et à son pigment ; ou bien le milieu, tout en permettant le développement de la Bactérie, ne convient pas très bien à la production du pigment et dans ce cas la production du pigment est lente.

Dans le 1er cas, comme cela a lieu pour le milieu à la dextrine, la production du pigment est rapide. Les spores sont pénétrées par le pigment avant leur germination. Leur membrane reste incolore : mais leur protoplasme se colore en rouge intense ; souvent même la masse nucléaire est colorée ; on n'y distingue pas le karyosome. Dans ces conditions, elles sont tuées par le colorant et ne germent pas. Si certaines d'entre elles ont le temps de germer avant d'être atteintes par le pigment, l'amibe formée s'arrondit et son protoplasme se résout en granules fortement colorés au milieu desquels on peut parfois distinguer le noyau. Le développement ne va pas plus loin.

Dans le 2e cas au contraire, sur la graine de lin par exemple, les colonies du *Bacillus kieli* sont d'abord blanches et ne deviennent rouges que tardivement, après 40 heures environ. Alors les spores germent. Les jeunes myxamibes ne se colorent pas ; on distingue seulement quelques granulations rouges dans les vacuoles. Dans une culture plus âgée, à côté d'éléments presque incolores, renfermant seulement dans leurs vacuoles des granulations rouges et des Bacilles colorés, il y a des éléments imprégnés qui montrent une différenciation très nette de l'endoplasme et de l'ectoplasme. L'endoplasme seul est coloré. On peut voir sur les individus colorés ainsi à l'état vivant (ils émettent des pseudopodes) que l'endoplasme qui incolore paraît granuleux, n'est pas constitué par des granulations, mais par un reticulum très visible enfermant dans ses mailles un protoplasme incolore hyalin.

Avec le pigment du *Bacillus kieli*, on voit très rarement le noyau coloré ; s'il est coloré, c'est d'une façon massive ; karyosome et zone périphérique sont confondus.

Ensuite vient le rassemblement des amibes, puis la forma-

tion de l'appareil sporifère. Les grosses cellules vacuolaires que l'on rencontre presque toujours à la base du pied de l'appareil sporifère sont généralement colorées d'une manière intense, si la fructification s'est formée sur une colonie pigmentée. Quant à la fructification elle-même, elle peut être colorée ou incolore.

La coloration de la fructification est due à la coloration du mucus qui l'entoure tout entière. En effet, la membrane des cellules du pied n'est pas imprégnée, mais on voit très bien les limites des cellules noyées dans un mucus coloré. Il en est de même pour la tête sporifère ; on a une fausse coloration de la membrane des spores. Il se condense, en effet, du mucus très coloré à leur surface. Parfois le protoplasme lui-même des spores est coloré ; dans ce dernier cas, comme nous l'avons vu plus haut, elles sont tuées ; elles sont incapables de germer.

Lorsque la culture est faite sur carottes lavées et stérilisées, la plupart des fructifications sont colorées en rose. Ici les spores sont généralement incolores, montrant seulement un liséré rose de mucus déposé à la surface de leur membrane. Il en est de même pour les cellules du pied.

Au lieu du *Bacillus kieli*, mettons en association le *Bacillus violaceus* sur le milieu à la dextrine qui est très favorable à la production de la violacéine. Nous ferons de nouveau la remarque que si la Bactérie donne immédiatement un pigment abondant, le développement peut être nul. Cependant la violacéine paraît moins nocive pour *D. mucoroides* que le pigment du *Bacillus kieli;* il y a le plus souvent simplement un retard dans la germination et au bout de 3 à 4 jours, on observe sur le milieu de culture d'abondantes myxamibes. Un grand nombre de ces myxamibes sont colorées.

La coloration par la violacéine est plus délicate que celle obtenue avec le rouge de Kiel. Le reticulum de l'endoplasme se voit nettement, le contour des vacuoles est plus accusé. En même temps, souvent le noyau est coloré et alors le colorant se fixe exclusivement sur le karyosome central. Si le noyau est en voie de division, les chromosomes seuls sont colorés. D'après cela, il paraît évident que les corpuscules colorés vus par Matruchot dans les cordons d'enchylema de *Mortierella reticulata* sont bien les nucléoles des noyaux.

Les fructifications sont incolores ou colorées, comme nous l'avons vu précédemment avec *B. kieli*.

Si les fructifications sont colorées, les membranes des cellulles du pied et des spores restent incolores. Seulement, elles sont entourées de mucus fortement violet. Les noyaux des cellules du pied sont presque toujours colorés.

Si nous faisons des cultures semblables avec *Dictyostelium purpureum* et *Polysphondylium violaceum*, nous observerons aussi des phénomènes de coloration de leurs myxamibes, mais tandis que *D. purpureum* se comporte comme *D. mucoroides*, il en est tout autrement de *P. violaceum*.

Lorsque l'on associe *Polysphondylium violaceum* avec *B. violaceus*, il donne une culture très luxuriante. Les appareils sporifères formés sont incolores. (J'aurai l'occasion de revenir sur l'importance de cette constatation.) En outre, dans les cultures, ce sont seulement les jeunes myxamibes qui se colorent.

En résumé, le pigment des Bactéries chromogènes permet de révéler *in vivo* la structure des myxamibes des Acrasiées. La violacéine surtout constitue un colorant vital d'une extrême délicatesse. Non seulement elle nous montre la structure réticulée de l'endoplasme, mais elle colore aussi le karyosome à l'état de repos ou à l'état de division.

Nous allons voir maintenant que la coloration de l'appareil de fructification par le pigment des Bactéries n'est pas indifférente au point de vue taxinomique et que certaines espèces d'Acrasiées, décrites comme distinctes à cause de leur couleur, devront sans doute être considérées comme appartenant à une même espèce associée à des Bactéries chromogènes différentes.

IMPORTANCE TAXINOMIQUE DES PIGMENTS BACTÉRIENS CHEZ LES ACRASIÉES

Mon attention a été attirée sur l'importance que pouvaient présenter les pigments bactériens dans la systématique des Myxomycètes par les changements de couleur que l'on observe dans les appareils de *D. mucoroides* suivant le milieu de culture et suivant la Bactérie associée. Tous les auteurs qui ont étudié cette Acrasiée notent ce fait que sa fructification incolore, lorsqu'elle est jeune, devient jaunâtre en vieillissant.

Cultivons *D. mucoroides* avec *B. fluorescens* dans un milieu

liquide où *B. fluorescens* donne son pigment. Le milieu minéral de Gessard convient particulièrement; les têtes des jeunes fructifications de *D. mucoroides* nous montreront alors une belle fluorescence. Il en est de même si nous faisons la culture pure mixte sur carottes lavées à l'eau ammoniacale avant la stérilisation.

On sait que le pigment fluorescent ne se montre que dans les milieux alcalins. Soumettons aux vapeurs d'ammoniaque des têtes de jeunes fructifications *D. mucoroides* avec *B. fluorescens* qui sont incolores : très fréquemment, nous les verrons prendre une magnifique fluorescence. Or, le pigment fluorescent se transforme en pigment couleur jaune feuille morte.

C'est précisément ce qui a lieu dans les vieilles fructifications de *D. mucoroides* et ce qui leur donne leur couleur.

Mettons en culture pure mixte *D. mucoroides* avec *Bacillus coli :* les fructifications resteront toujours d'un blanc parfaitement pur. Aussi y a-t-il lieu de se demander si *Dictyostelium lacteum* Van Tieghem n'est pas une association de *D. mucoroides* avec une Bactérie sans pigment. Dans les milieux de culture qui conviennent peu, il arrive souvent, en effet, que, comme chez *D. lacteum*, on a des fructifications de *D. mucoroides* dont le pied est formé d'une seule rangée de cellules et dont les spores plus petites sont presque sphériques, mesurant de 3 à 5 μ de diamètre. Il est permis aussi de faire des réserves pour le *Dictyostelium roseum* Van Tieghem qui, à part sa couleur, ne se différencie pas beaucoup de *D. mucoroides*, pour *Dictyostelium aureum* Olive, surtout pour *Guttulina rosea* Cienkowski, dont Cienkowski a noté la coloration des myxamibes. Il n'y a certainement aucun doute pour *Guttulinopsis vulgaris* Olive ; voici en effet ce qu'en dit l'auteur :

« La couleur de la tête sporifère peut varier avec la sécheresse et la composition du substratum. Quand elle pousse sur du crottin, par exemple, les têtes sont ordinairement blanches ; puis, plus tard, en séchant, elles deviennent uniformément jaunâtres ; au contraire, sur tubes de gélose les têtes sporifères sont uniformément blanches. Il est possible que la couleur jaunâtre soit due à de petites particules, provenant du substratum, qui sont transportées dans l'ascension de la colonie et dont la couleur se voit davantage par suite de la dessiccation. »

Ici, il s'agit évidemment d'une association de l'Acrasiée avec une Bactérie fluorescente comme pour *D. mucoroides*. Peut-être pourrait-on en dire autant de *Guttulina aurea* Van Tieghem, dont Van Tieghem dit qu'elle ne diffère de *Guttulina rosea* que par sa couleur.

Les deux Acrasiées à pigment violet que j'ai étudiées, *Dictyostelium purpureum* et *Polysphondylium violaceum* ont un pigment propre. En effet, elles conservent ce pigment sur les milieux de culture divers que j'ai essayés; en outre, quelle que soit l'espèce de Bactérie fluorescente ou de Bactérie non chromogène associée, s'il y a quelques différences dans la longueur du pied, la grosseur de la tête sporifère, dans l'abondance des ramifications, au contraire les caractères essentiels, la couleur, les dimensions des spores, restent constants.

Associé avec une Bactérie chromogène, *B. violaceus*, *D. purpureum* donne des fructifications colorées mais très petites. Au lieu d'une tête sporifère ayant souvent plus de 300 μ, la tête ne mesure pas plus de 60 à 80 μ. Le pied n'a pas plus de 2 à 3 m.m. de hauteur, au lieu de souvent plus d'un centimètre.

Avec la même association bactérienne, la transformation de *Polysphondylium violaceum* est encore plus grande.

Les fructifications très abondantes, souvent très ramifiées, portent des têtes sporifères très petites, certaines peuvent être inférieures à 50 μ. Enfin elles sont complètement incolores. Ces caractères se conservent dans les cultures successives à condition que la Bactérie donne son pigment. Dans de telles cultures, les caractères de l'Acrasiée sont très voisins de ceux de *Polysphondylium pallidum* Olive.

Comment expliquer ce phénomène de décoloration?

Tout d'abord établissons ceci : c'est que le pigment de la Bactérie et celui du Champignon sont différents. En effet les réactions aux bases et aux acides sont différentes.

Le pigment de la Bactérie est soluble dans l'alcool en donnant une solution d'un beau violet. L'ammoniaque, la potasse font virer la couleur en vert. L'acide acétique rend la teinte plus bleue.

Le pigment de l'Acrasiée paraît être énergiquement fixé. Il n'est soluble ni dans l'eau, ni dans l'alcool, ni dans l'éther, ni dans le chloroforme. Sous l'action des alcalis, il devient plus bleu; au contraire il vire au rouge avec l'acide acétique.

Le pigment bactérien, d'après Bourquelot, serait dû à l'action d'un ferment oxydant sur un phénol.

Devons-nous admettre qu'il en est de même pour l'Acrasiée et que dans le cas de *Polysphondylium violaceum* qui est toujours moins coloré que *D. purpureum*, la production d'oxydase est plus fugitive et que cette oxydase est fixée par le pigment bactérien ?

OBSERVATIONS SUR LA CYTOLOGIE DES MYXAMIBES ET LA FORMATION DE L'APPAREIL SPORIFÈRE

Comme, assez fréquemment, on observe, chez les myxamibes des Acrasiées que j'ai étudiées, des vacuoles qui ne contiennent qu'une seule Bactérie, certains auteurs ont pris souvent les Bactéries incluses dans les vacuoles pour des corps chromatiques. Olive qui a fait un travail consciencieux sur le sujet trouve qu'il est souvent difficile de se prononcer.

Si l'on veut étudier la cytologie de ces organismes, il est nécessaire de faire, aux mêmes stades de développement, d'une part des préparations colorées par la thionine par exemple, permettant de bien voir les Bactéries, et d'autre part des préparations faites avec les méthodes de coloration spéciales pour mettre en évidence les corps chromatiques.

La méthode de coloration de Laveran, déjà indiquée, donne sur les préparations réussies tous les détails de la structure cellulaire des myxamibes.

J'ai cependant contrôlé ces résultats par deux autres méthodes : 1° coloration à l'hématoxyline au fer d'Heidenhain après fixation au sublimé; 2° méthode de Borrel : coloration au rouge de Magenta, différenciation par le picro-indigo-carmin, alcool, essence de girofle, sur des préparations fixées avec le liquide suivant :

Eau	300	grammes.
Acide acétique	20	—
Acide osmique	2	—
Chlorure de platine	2	—
Acide chromique	3	—

Pour la période qui comprend la vie végétative des myxamibes on peut se contenter de préparations sur lames ; mais pour la période de fructification, il est préférable de fixer, puis

d'inclure dans la paraffine la culture elle-même avec son substratum. La gélose s'inclut très bien dans la paraffine à condition de ne pas la laisser plus d'une heure dans le xylol et de ne pas inclure à une température supérieure à 49°.

Dans la spore, lorsqu'elle est prête à germer, on peut colorer un corpuscule chromatique central entouré d'une zone périphérique claire. La membrane enveloppante est plus ou moins apparente. (Pl. XIV, fig. 1, 2, 3, 18, 11.)

Généralement si la culture est faite en gouttes pendantes, en milieu liquide par conséquent, lorsque la spore a germé, alors que la membrane est même encore adhérente à l'amibe qui conserve la forme de la spore, le noyau n'est plus colorable, et il semble, comme l'a vu Olive, qu'il se soit réduit en corpuscules chromatiques qui sont disséminés dans le protoplasme. (Pl. XIV, fig. 3, 4.) Ces corpuscules se disposent parfois de manière à constituer une spirale. (Pl. XIV, fig. 5.)

Ensuite tous ces corpuscules se rassemblent au centre de l'amibe quiescente, formant une sorte de plaque équatoriale. (Pl. XIV, fig. 6.)

Puis l'amibe prend une forme plus ou moins irrégulière et en même temps la masse chromatique équatoriale se divise en deux petites masses qui s'éloignent l'une de l'autre, séparées par une zone claire. (Pl. XIV, fig. 7, 8.)

La forme de ces masses est celle d'un bâtonnet un peu trapu. La vacuole devient alors plus nette; les deux bâtonnets, que nous pouvons assimiler à deux chromosomes, vont s'éloigner de plus en plus l'un de l'autre jusqu'à venir se coller aux deux extrémités de la vacuole qui pendant ce temps s'est allongée. (Pl. XIV, fig. 16, 17.) Les deux chromosomes s'incurvent en forme de toit. (Pl. XIV, fig. 18, 19.) L'amibe elle-même prend une forme plus longue; elle se scinde par étirement (Pl. XIV, fig. 20, 24, 25), chacune des parties emportant la moitié de la vacuole qui s'est divisée. Chaque amibe fille contient alors une vacuole avec 2 chromosomes, les chromosomes s'étant coupés au niveau du sommet du toit.

Sur les milieux solides on observe rarement le stade de fragmentation du noyau et le stade de la plaque équatoriale, lors de la germination de la spore.

L'amibe qui sort de la spore prend presque immédiatement

une forme irrégulière. (Pl. XIV, fig. 14, 15, 21, 22, 23.) Le karyosome central se divise en deux chromosomes qui se placent parallèlement l'un à l'autre et tout se passe comme plus haut. Ceci se voit nettement sur des préparations à l'hématoxyline au fer. (Pl. XIII, fig. 2 et 3.)

Les amibes vont grossir, devenir plus ou moins vacuolaires et se diviseront de nouveau un plus ou moins grand nombre de fois, le mode de division étant toujours le même.

Il s'agit en somme d'une division indirecte très simplifiée. Il n'y a ni centrosomes ni filaments de linine.

Dans les cultures, vers la 40e heure, au moment où la vie des myxamibes est la plus active, on observe souvent une division directe du noyau. (Pl. XIV, fig. 28, 29, 30, 31.) Le noyau se divise alors par étirement. (Pl. XV, fig. 4, 5, 6, 7.) A ce stade on rencontrera parfois des myxamibes possédant deux noyaux.

Si l'on étudie la formation de l'appareil sporifère sur des coupes, on voit que la différenciation des cellules du pied se fait à l'intérieur de la masse formée par les myxamibes agrégées, réunies entre elles par du mucus. Elle procède du centre vers la périphérie et de la base au sommet. Ceci est très net sur des coupes faites les unes parallèlement, les autres perpendiculairement à l'axe de la masse fructifiante. Dans la planche XVI, fig. 1, sur une coupe sagittale d'un appareil sporifère tout à fait au début de sa formation, on voit que les cellules les premières différenciées pour former le pied sont les myxamibes centrales (C) ; ces cellules, par suite du glissement des myxamibes sous-jacentes, formeront la base du pied qui continuera à s'accroître en hauteur et en largeur, par différenciation des myxamibes occupant le centre de la masse. (Pl. XVI, fig. 2 et 4.)

Avec le réactif de Mangin, acide iodhydrique fumant iodé, on distingue de très bonne heure sur coupes les cellules différenciées pour former le pied; elles sont en effet entourées d'un liséré bleu violet qui va en augmentant, indiquant une membrane cellulosique. Le même réactif colore en bleu violet la membrane des spores, sur de semblables coupes.

On se rend compte aussi que la masse en fructification s'élève à chaque fois d'une hauteur égale à la longueur de pied construite. Or si nous considérons que les cell ules qui forment le pied

deviennent vacuolaires, se gorgent d'un liquide hyalin et que par suite leur volume augmente, nous conclurons à l'existence d'une pression à l'intérieur de la masse. Le glissement des myxamibes se trouve donc aidé par un soulèvement. Le pied, en se formant, fait l'office de piston. Cela nous permet de comprendre la rapidité avec laquelle s'édifie parfois un appareil sporifère.

L'existence de cette pression explique aussi la forme spirale que présentent les jeunes appareils sporifères en s'élevant. La tension oblige le pied (P) à se courber et sa courbure entraîne celle de la masse des myxamibes, comme le montre bien la photographie d'une coupe sagittale d'un appareil sporifère en voie de formation. (Pl. XVI, fig. 3.) La pression qui résulte de la formation du pied peut aussi nous expliquer les formes ramifiées que l'on observe quelquefois chez les *Dictyostelium* et toujours chez les *Polysphondylium*. En effet, si la cohésion de la masse formée par les amibes est moindre ou si la pression intérieure est plus forte, il y aura fragmentation de la masse. Les petites masses étagées ensuite par suite de l'accroissement intercalaire du pied se comportent comme autant de colonies distinctes. Les ramifications ainsi formées sont presque perpendiculaires sur l'axe principal parce que, comme nous l'avons vu, les appareils sporifères se forment toujours perpendiculairement au substratum.

(*A suivre.*)

Sur un Piroplasme du Cervus aristotelis de l'Annam

Par le Dr DENIER
Médecin de la Marine.
(Institut Pasteur de Nha-Trang, Annam.)

Avec partie supérieure de la pl. XVII.

Deux jeunes biches de l'espèce *Cervus aristotelis*, commune en Indo-Chine, que je conservais en captivité à Nha-Trang et qui provenaient de Suoi Giao, ayant succombé inopinément, je pratiquai l'autopsie et, en examinant le sang, coloré au Giemsa, j'y observai des inclusions endoglobulaires dont la nature piroplasmique me parut probable. M. Mesnil, à qui j'ai envoyé les préparations, a bien voulu les étudier à son tour et faire exécuter par M. Roussel, sur ses indications, les aquarelles reproduites sur la planche.

Les parasites étaient plus fréquents chez la biche 1 (presque un par champ) que chez la biche 2. Ils ont partout les mêmes formes; la plus commune est un corps ovoïde de 2 5 de long (fig. 6, 7, 13, 14), portant à un des pôles une calotte de chromatine en croissant qui tranche nettement, par sa teinte violet foncé, sur le rose lilas plus ou moins pâle du globule et sur le bleu pâle du cytoplasme du parasite; ce bleu n'est bien net qu'au pourtour de l'ovoïde; au centre, on a une sorte de vacuole.

A côté de ces formes, on en observe d'autres plus petites, un peu différentes (voir fig. 1, 4, 8, 11, 12). Il y en a de nettement amiboïdes : tantôt, c'est le protoplasme qui envoie des prolongements (fig. 5); tantôt, c'est le noyau (fig. 3).

On trouve enfin des formes de multiplication par 4 (fig. 10, 16-18); elles étaient les plus nombreuses chez la biche 2, pourtant la moins parasitée. Les 4 éléments sont disposés en croix (ou en carré) avant de se séparer (fig. 16, 17). Au premier abord, on distingue 4 boules violet foncé de 0 μ 5 de diamètre; en y regardant de plus près, on voit que chaque boule est surmontée d'un petit cône très surbaissé de protoplasme bleuâtre.

En dehors de ces cas de multiplication, il est très rare de trouver plus d'un parasite par hématie; la figure 9 en montre 2 qui paraissent intermédiaires entre les produits d'une multiplication et les formes ovoïdes dont nous avons parlé au début.

Nous n'avons pas vu un seul parasite nettement bacilliforme; la figure 2 est ce qui s'en rapproche le plus.

An moment où nous faisions l'observation de ce piroplasme du cerf, paraissait le travail de Bettencourt, França et Borges sur un cas de piroplasmose bacilliforme chez le daim [1]. La ressemblance de la plupart de leurs figures avec les nôtres est telle que, provisoirement, nous classerons notre piroplasme dans la même espèce que le leur : *Piroplasma* (ou *Theileria*) *cervi*. Nous devons néanmoins remarquer que les savants de Lisbonne ont observé de nombreux éléments bacilliformes que nous n'avons pas vus. Les conditions d'apparition des diverses formes des piroplasmes sont d'ailleurs encore très mal connues.

Koch [2] regarde la division en 4 éléments disposés en croix comme caractérisant un groupe spécial de piroplasmes; ce mode de multiplication se retrouve chez tous les piroplasmes du type du *Piroplasma parvum* de Theiler [3]; Bettencourt, França et Borges le donnent comme une des caractéristiques de leur second groupe, celui des piroplasmoses bacilliformes, pour lequel ils proposent de créer le genre *Theileria*.

L'association de formes en bâtonnet et de division en 4 éléments disposés en croix mérite de nouvelles études. En dehors du cas de notre cerf, il faut encore signaler, croyons-nous, celui du *Piroplasma equi* chez lequel Laveran [4] a décrit, dès 1901, le mode de division dont nous parlons et où il ne paraît pas exister d'éléments bacilliformes.

Nha-Trang, 7 février 1907.

EXPLICATION DE LA PLANCHE XVII (PARTIE SUPÉRIEURE)

Les figures 1 à 10 proviennent de la biche n° 1; les figures 11-18 de la biche n° 2. Elles ont été faites à la chambre claire (Leitz oc. 4, obj. I. H. 1/12, chambre claire Dumaige), puis uniformément agrandies de façon à ce que le grossissement soit de 2,000 diamètres environ. — Pour les détails, voir le texte.

1. *Archivos do R. Inst. bacter. Camara Pestana*, t. II, 1907, p. 341.
2. *Deutsche medic. Woch.*, 23 nov. 1905.
3. *Journ. of. comp. path. a. ther.*, t. XIX, déc. 1906.
4. *C. R. Soc. Biologie*, 1901, p, 385.

HÉMATOZOAIRES DES BOVIDÉS EN INDO-CHINE

Par H. SCHEIN

Vétérinaire de l'Institut Pasteur de Nha-Trang (Annam

(Avec partie inférieure de la Pl. XVII.

I

Piroplasmes.

Il existe, chez presque tous les Bovidés que j'ai examinés, un piroplasme qui présente des formes tout à fait analogues à celles que M. Denier vient de décrire chez le cerf. Je les ai trouvées plus abondantes chez les jeunes que chez les adultes, sur les sujets malades de peste bovine que sur les sujets sains.

Les formes que l'on observe sont assez variées. Ainsi, le bœuf 589, animal de passage de peste bovine, assez fortement parasité, dont un grand nombre de nos dessins (fig. 19-31) sont extraits, a montré des formes en poire typiques et des formes en bâtonnet (dont une moitié se colore en lilas, l'autre en bleu); les petites formes ovoïdes typiques manquaient ou étaient très rares.

Chez le bœuf 569 (voir fig. 32-35), autre animal de passage de peste bovine, peu parasité, nous avons trouvé des petites formes ovoïdes et des bâtonnets.

Le P. s. g. noir, jeune veau de 20 mois, né dans les étables de l'Institut à Suoi-Giao, en bonne santé, a aussi de rares formes ovoïdes et bacillaires (fig. 39-40). Il en est de même du bœuf jaune, animal adulte, de travail, non malade (voir fig. 36-38); ici les bâtonnets, généralement fins, dominent.

On trouve aussi des formes libres (fig. 31); ces formes étaient surtout abondantes (voir fig. 50) dans certains points de la préparation d'un bœuf trypanosomé (voir *infra*) qui renfermait d'ailleurs des formes endoglobulaires non rares.

Chez aucun de ces animaux, nous n'avons vu de division ne 4, regardée comme caractéristique des piroplasmoses du type bacilliforme.

Il n'y a généralement qu'un parasite par hématie, sauf

les formes en poire généralement associées par 2. On observe d'ailleurs un grand nombre de stades de la division en 2 des éléments piriformes (fig. 22).

Chez un même animal, le type de parasite peut varier; ainsi, nous avons vu un veau, qui ne portait que la forme bacillaire, présenter, quelques jours après, de très belles formes en poire, nombreuses. Cette observation n'est pas sans analogie avec celles publiées par Miyajima et Shibayama.

L'examen des figures 19 à 40 de la planche nous dispensera d'une plus longue description.

Les sujets ne paraissent pas souffrir de la présence des piroplasmes. L'infection généralisée à toute la province de Nha-Trang rend l'expérimentation impossible. Les bœufs sont couverts de tiques dès leur naissance.

Au point de vue morphologique, les formes que nous avons observées rappellent à la fois le *Piroplasma bigeminum* type et le *Piroplasma parvum*. Dans ses travaux récents, Theiler regarde pareille association de formes comme relevant de deux espèces distinctes associées : *Pir. bigeminum* et une espèce nouvelle, *Pir. mutans*, qui ne diffère pas *morphologiquement* du *Pir. parvum* de la « fièvre de la côte orientale d'Afrique. »

Pareille association existe, d'après Theiler, dans l'Afrique australe et à Madagascar. Elle paraît bien exister aussi à Madras, d'après Christophers[2], au Japon, d'après Miyajima et Shibayama[3], aux Indes néerlandaises.

Nos observations contribuent à montrer la grande généralité de cette association et c'est une donnée dont il faudra tenir compte dans la discussion des conclusions de Theiler.

Nha-Trang, 18 février 1907.

II

Trypanosomes

En recherchant des piroplasmes sur le veau H. 610, animal de passage de peste bovine, nous avons trouvé un trypanosome très différent du *T. evansi*, voisin de celui décrit par P.-D.-E. Holmes[4] chez les bovidés de l'Inde, et qui nous semble offrir les

1. *Journ. comp. Path. a. Ther.*, t. XIX, déc. 1906 et t. XX, 1907. Voir *Bull. Inst. Pasteur*, t. V, p. 253 et 387.
2. Stephens et Christophers, *The practical study of the malaria*, 2e édition.
3. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. LIV, 1906.
4. Analyses *in Bull. Inst. Pasteur*, 1904, p. 1027 et 1905, p. 119.

plus grandes analogies avec le *T. theileri* Lav., tel qu'il est décrit par MM. Laveran et Mesnil, dans leur ouvrage bien connu.

Morphologie. — Dans les préparations fraîches, le trypanosome se montre très mobile, au moins autant que le *T. evansi.* Il ne nous a pas paru posséder le mouvement « en flèche » du *T. lewisi,* mais il quitte souvent le champ du microscope. On ne peut bien voir sa forme que sur des préparations faites depuis plusieurs heures, ses mouvements sont alors ralentis.

Ce n'est que sur les lames fixées et colorées que l'on peut voir les détails d'organisation. Nous n'avons malheureusement pu employer la méthode de Laveran, le tannin s'altérant très vite dans la colonie. Mais la méthode de Giemsa nous a donné des préparations très lisibles.

Le parasite (voir les fig. 41 à 49 de la planche) est grand, large, le flagelle bien développé. La membrane ondulante est souvent bien développée et offre alors de belles plicatures. Elle se termine à un centrosome bien visible, dont la situation par rapport au noyau est loin d'être constante. Nous l'avons même vu au voisinage, ce qui assimilerait le flagellé montrant cette anomalie au *T. transvaaliense.* On sait que Theiler affirme l'identité de ce dernier avec le *T. theileri.* La co-existence en Indo-Chine de ces deux formes semble venir à l'appui de cette manière de voir.

L'extrémité postérieure est très allongée, très effilée. Le parasite est d'ailleurs très polymorphe, comme le montrera le tableau ci-dessous (les chiffres indiquent des μ).

A. Distance de l'extrémité postérieure au centrosome..........	17,7	11,2	8,0	8,0	6,5	22,5
B. Distance du centrosome au noyau........................	7,2	2,4	8,0	8,0	6,5	9
C. Longueur de noyau...........	2,3	3,6	3,2	3,2	3,2	2,7
D. Distance du bord antérieur du noyau à l'extrémité du corps..	11,3	11,6	13	14,5	12,9	17,7
E. Longueur du flagelle	**17,7**	**16,2**	**17,7**	**19,3**	**16**	**14,5**
F. Largeur totale................	**3,6**	**4,4**	**3,22**	**3,22**	**3,22**	**6,4**
Longueur totale	**56,2**	**45,0**	**50,0**	**53,14**	**45,1**	**66,2**

On voit que ces dimensions se rapprochent beaucoup de celles indiquées par Theiler et par Holmes et Lingard.

Les formes d'involution sont fréquentes. On voit des formes en têtard qui semblent un mode particulier de multiplication (fig. 49). D'ailleurs, on voit aussi des formes de multiplication par scission longitudinale (fig. 44).

On rencontre fréquemment des formes avec 2 noyaux (fig. 42, 45) qui ne paraissent pas se préparer autrement à la division. On trouve de plus des parasites à tous les stades de dégénérescence : depuis la forme, encore nette, où le protoplasma pâle, peu coloré, contient un noyau globuleux, jusqu'au parasite réduit à un centrosome et flagelle.

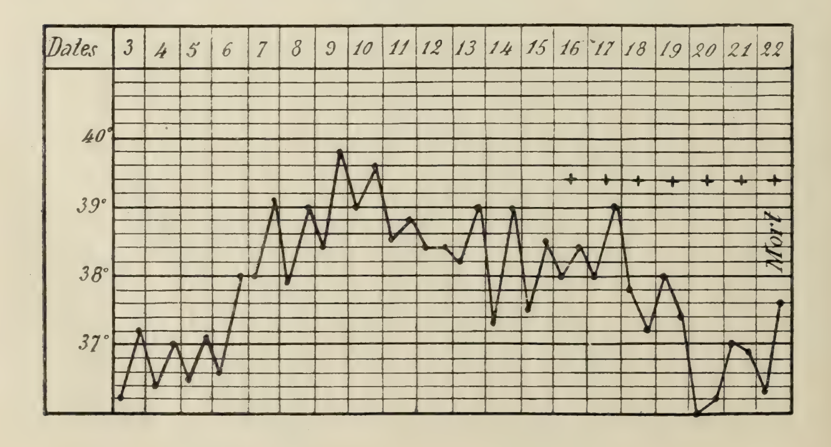
Certaines formes sont fortement granuleuses ; aux environs du noyau, une zone reste plus claire, offrant moins de granulations basophiles.

On voit parfois des vacuoles, à siège variable, dont la réfringence tranche nettement sur les grains fortement colorés du reste du corps.

Action sur l'hote. — Le trypanosome ne nous a pas paru modifier d'une façon appréciable le cours de la peste bovine chez H. 610, qui était aussi porteur de piroplasmes.

Inoculé de peste le 3 avril, cet animal a présenté l'habituelle réaction le 4e jour. Le 7e jour (10 avril), il subit le lavage péritonéal selon le procédé Nicolle. Ce n'est que le 16 avril que nous avons constaté la présence des Trypanosomes. Il en a toujours présenté 5-6 par champ (oc. 4, obj. 6), jusqu'au moment de la mort, le 22, dans la nuit. Les parasites avaient disparu.

Le relevé de températures ne montre aucune différence avec celui d'un autre animal de passage (voir ci-dessous).



A l'autopsie, en outre des lésions accoutumées de la peste, nous avons noté une congestion intense des poumons, des pétéchies sur le péricarde, l'augmentation de volume de la rate. Il n'y avait pas d'anémie notable.

Inoculations. — Des inoculations faites à deux rats, deux cobayes, deux lapins, un chien sont demeurées sans résultat, malgré la forte dose de sang injectée (5 c. c. au chien, 3 aux lapins, 2 aux cobayes, 1 aux rats).

Un veau, 232 bis, reçut dans la jugulaire 100 c. c. de sang de H. 610. Pour éviter l'infection de Peste, on lui injecta 100 c. c. de sérum antipestique sous la peau de l'encolure.

L'examen de son sang, pratiqué journellement pendant un mois (jusqu'au 15 mai), ne nous a jamais révélé de Trypanosomes.

Mais, le 10 avril, 5 jours avant d'avoir découvert les Trypanosomes chez H. 610, deux veaux neufs, H. 612 et H. 613, avaient reçu chacun 1 c. c. de sang du premier pour effectuer la culture *in vivo* de notre virus pestique.

H. 612 succomba très rapidement du typhus (le 22 avril, en même temps que H. 610) sans avoir présenté de parasites. L'examen du sang de H. 613, pratiqué quotidiennement à partir du 18, resta infructueux jusqu'au 22. Ce jour, nous avons trouvé un parasite pour 40 champs environ; le lendemain, 1 pour 30, et ainsi jusqu'au 26, où les parasites ont été plus rares, ainsi que le 27. Le 28, ils ont disparu définitivement.

H. 613, quoique ayant eu une forme sévère de Peste, s'est remis peu à peu.

Le 17 avril, avant d'avoir constaté la présence des parasites chez H. 613, il fut saigné pour les passages de peste et le veau H. 615 reçut 1 c. c. de sang sous la peau.

Nous ne pûmes examiner H. 615, dont le sang fut, 7 jours après, inoculé à la même dose sur H. 616 et H. 617.

H. 616 montra des parasites, non rares (1 pour 10 champs).

Chez H. 617, l'examen fut infructueux; mais son sang, injecté à H. 619 le 1er mai, devait contenir des parasites : dès le 10, H. 619 nous en montra de rares.

Jamais ces veaux n'eurent de symptômes particuliers attribuables à la présence du Trypanosome, mais ces symptômes pouvaient être masqués par l'évolution du virus pestique.

Nous n'avons pas trouvé le parasite chez les animaux

guéris de peste, qui avaient servi aux passages antérieurs à H. 610. Ces animaux, réinoculés avec le sang parasité de H. 613, n'ont pas laissé apparaître de parasites. Il est possible qu'ils aient été infectés par une atteinte antérieure, au moment des passages hebdomadaires de peste, et que cette atteinte leur ait conféré l'immunité.

Le tableau suivant résume nos inoculations.

H. 610 (+) ⟶ { H. 612 (?) ; H. 613 (+) ⟶ { Veaux antérieurs à H. 610 (—). ; H. 615 (?) ⟶ { H. 616 (+). ; H. 617 (—) ⟶ H. 619 (+). } } ; 232 bis (—) }

Les signes entre parenthèses indiquent le résultat des examens microscopiques.

En résumé :

1° Il existe dans le sang des veaux d'Annam un Trypanosome, de grande taille, à l'extrémité postérieure allongée et effilée, présentant des formes d'involution. On voit des formes analogues à *T. transvaaliense ;*

2° Ce trypanosome n'est pas inoculable à d'autres animaux que les Bovidés;

3° Il peut être très rare, non décelable même à l'examen microscopique journalier, mais présent dans le sang des animaux inoculés, car ce sang est infectieux;

4° Il paraît conférer l'immunité contre une nouvelle atteinte ;

5° Tous ces caractères le rapprochent beaucoup de *T. theileri* [1] même ils n'identifient pas les deux parasites ;

6° Son action pathogène n'est pas nette. Il est possible que, en saison sèche, sur des animaux débilités par le manque de nourriture, il puisse devenir dangereux ;

7° Au point de vue pratique, la présence de ce Trypanosome présente quelque intérêt en raison de la confusion qu'elle peut apporter dans la recherche des cas latents de Surra chez les Bovidés. A moins d'avoir acquis l'habitude de reconnaître le parasite, les vétérinaires des épizooties ne devront se prononcer qu'après inoculation au rat et au chien.

Nhatrang, le 13 mai 1907.

1. Les Trypan. du type de *T. theileri* paraissent très cosmopolites : on en a trouvé en divers points de l'Afrique, en Transcaucasie (Lühe, Luhs), dans l'Inde anglaise (Durrant et Holmes, Lingard), tout récemment enfin à Singapour (Falshaw et Lingard).

FIG. 19 A 50 DE LA PLANCHE XVII

Les figures 19 à 40 concernent les hématozoaires endoglobulaires des bœufs de Nha-Trang. Les fig. 19 à 31 proviennent du bœuf 589; les fig. 32-35 du bœuf 569; les fig. 36-38 du bœuf « jaune »; enfin les fig. 39-40 du veau P. s. g. Un certain nombre ont été exécutées d'après les dessins de l'auteur; les autres ont été faites par M. Roussel, sur les indications de M. Mesnil, à la chambre claire (Leitz, oc. 4, obj. I. H. 1/12, ch. claire Dumaige); toutes ont été uniformément agrandies de façon à ce que le grossissement soit de 2,000 diamètres environ comme pour les Piroplasmes du cerf de M. Denier (fig. 1 à 18).

Les fig. 41 à 49 concernent les Trypanosomes. Les aquarelles ont toutes été faites d'après des dessins à la chambre claire de Dumaige (Leitz, oc. 4, obj. I. H. 1/12) sans agrandissements. Le grossissement est d'environ 1,100 diamètres.

La fig. 50 — piroplasme extraglobulaire de la même préparation — est représentée au même grossissement.

STOMOXYIDES NOUVEAUX DU CONGO

Par E. ROUBAUD

Agrégé des sciences naturelles,
Membre de la mission française de la maladie du sommeil.

Les représentants du groupe des Stomoxyides, encore si mal connu, ne sont point à dédaigner au Congo français. Les Stomoxes en particulier sont excessivement nombreux et harcèlent aussi bien les indigènes que les bestiaux. A Brazzaville même, on en peut capturer des quantités sur le corps des malades du sommeil. Il n'est pas rare, surtout chez les sujets profondément affaiblis et en somnolence continuelle, de voir perler le sang en gouttes nombreuses au niveau des piqûres qui parsèment les pieds et les jambes de ces malheureux, dont l'inertie même facilite l'attaque des mouches piqueuses.

Outre l'espèce ubiquiste *Stomoxys calcitrans*, qui est particulièrement abondante, nous avons pu retrouver plusieurs des formes récemment décrites par Grünberg[1] pour le Cameroun : *St. glauca* Grünberg est très répandue, presque aussi commune que la précédente; *St. inornata* Grünberg, remarquable par sa trompe longue et grêle, est beaucoup plus rare. Nous en avons capturé trois exemplaires femelles, à plusieurs semaines d'intervalle, dans une des chambres de l'hôpital européen qui nous servit de laboratoire pendant plusieurs mois, au début de notre installation.

St. stellata et *St. brunnipes* Grünberg n'ont point encore été rencontrés. Mais il existe une forme nettement voisine de ces espèces par la couleur générale de ses pattes et par sa taille, espèce qui, pour l'ensemble de ses caractères, se rapprocherait plutôt de *St. glauca*. Il y a lieu, nous semble-t-il, d'y voir une forme spécifique distincte pour laquelle nous proposons le qualificatif de *St. intermedia*.

***

STOMOXYS INTERMEDIA *n. sp.*

Gris erne, à légère pubescence jaunâtre.

Espace interoculaire (♀) égalant le 1/3 de la largeur de la tête.

1. *Zool. Anzeiger*, t. XXX, 3 avril 1906.

Front gris argenté, à forte bande médiane noire. Face gris clair. Antennes noires à 3e article fortement pubescent. Chète testacé pâle à extrémité noire; palpes clairs atteignant le bord de l'épistome.

Thorax grisâtre à bande médiane plus claire. De chaque côté deux bandes longitudinales brun noirâtre, peu marquées, séparées dans toute leur longueur, n'atteignant pas l'écusson qui est uniformément gris jaunâtre. Les épaules et les flancs sont plus clairs que la face dorsale du thorax.

Abdomen gris jaunâtre marqué de bandes marginales brun noirâtre aux trois premiers segments, comme chez *St. glauca*. La bande médiane longitudinale est peu accusée. Dernier segment orné de deux taches punctiformes d'un gris plus foncé. Face ventrale d'un gris noirâtre. Fémurs noirs. Tous les tibias et les tarses entièrement testacés, ces derniers à peine plus foncés.

Ailes très légèrement obscurcies à la base. Cuillerons blancs. Balanciers jaunâtres. La femelle seule connue. Longueur 7 mm. Brazzaville.

*
* *

Enfin nous avons capturé sur un bœuf porteur du Chari, appartenant au troupeau du gouvernement à Brazzaville et atteint de trypanosomiase, de nombreux exemplaires d'une belle espèce également inédite, rare d'ailleurs en raison de son habitat qui paraît fort spécialisé. Les mâles, très alertes, difficiles à prendre, diffèrent des femelles et se reconnaissent d'emblée à leur face jaune d'or et à leurs ailes fortement enfumées. Il en existe également une variété claire dont les ailes sont totalement incolores comme celles des femelles. Il y a là un dimorphisme intéressant à signaler chez les Stomoxes.

STOMOXYS BOUVIERI *n. sp.*

♂. — Gris clair à pubescence plus sombre, soyeuse et veloutée. Espace interoculaire égal au cinquième de la largeur de la tête. Face et front d'un beau jaune d'or ou au moins gris doré, ce dernier pourvu d'une large bande médiane d'un noir de velours. Yeux d'un beau rouge à l'état frais. Antennes noires, le troisième article gris pubescent. Chète noirâtre, palpes testacé clair, atteignant le bord de l'épistome.

Thorax offrant une large bande médiane gris d'argent comme les épaules, et de chaque côté deux larges bandes longitudinales noir velouté, confluentes en arrière de la suture et n'atteignant pas l'écusson. Au-dessus de la base de l'aile, une bande de même couleur. Sur l'ensemble, une pubescence gris noirâtre spéciale donnant un aspect soyeux. Flancs gris terne. Ecusson brun, à bordure grise.

Abdomen gris, dos marqué de noir comme *St. glauca*, en bandes marginales aux trois premiers segments. Bande médiane longitudinale très étroite. Le dernier segment présente des taches gris foncé plus ou moins distinctes. Sur tous les segments, également, pubescence brun noirâtre, obscurcissant toutes les teintes.

Pattes entièrement noires, l'extrémité des fémurs et la base des tibias brun clair.

Ailes entièrement et très fortement teintées de brun. Balanciers et cuillerons également enfumés.

Long. 6 mm. 5 à 7 mm.

♀. — Ressemble à *St. glauca* Gr., mais plus grand : les chètes antennaires entièrement noirs, les bandes noires longitudinales du thorax plus larges, l'écusson fortement marqué de noir au centre. A l'abdomen, la bande noire longitudinale médiane est plus large que chez le mâle et que chez *St. glauca*. Ailes, cuillerons et balanciers entièrement incolores.

Long. 6 à 7 millimètres.

ST. BOUVIERI. *var.* CLARA

Les mâles caractérisant cette variété ont les ailes, les balanciers et les cuillerons entièrement incolores, comme les femelles. La pubescence brun noirâtre de l'abdomen est également moins accentuée ; au thorax elle est nettement gris fer. Long. 6 à 7 millimètres.

Les individus assez nombreux que nous possédons de cette espèce et de sa variété ont pour la plupart été capturés isolément, à plusieurs mois d'intervalle, sur le même bœuf trypanosomé, dans la haute brousse boisée qui s'étend derrière le laboratoire. Il nous a été impossible, jusqu'à présent, de la retrouver en d'autres endroits du plateau de Brazzaville, et notamment au parc à bœufs qui n'est distant du laboratoire, à

vol d'oiseau. que de quelques centaines de mètres, mais qui est installé sur un versant déboisé complètement. Deux mâles types ont été trouvés à l'île de M'Bamou, dans le Stanley-Pool, en compagnie de Glossines, dans un sentier frayé par les hippopotames à travers la haute futaie. L'un deux était gorgé de sang, et s'était vraisemblablement repu quelques heures avant sur ces gros mammifères dont les traces étaient encore toutes fraîches. Il nous semble donc qu'il s'agit bien ici d'une espèce vivant surtout aux dépens du gros gibier, dans la brousse, en dehors des habitations. Nous sommes heureux de dédier cette intéressante forme à notre maître, M. le professeur Bouvier.

*
* *

Les Stomoxyides du genre LYPEROSIA — sont aussi représentés au Congo français. A Brazzaville, nous avons pu prendre, également sur un bœuf trypanosomé du gouvernement, un couple d'une petite espèce voisine de *L. Thirouxi*. E. Roub., du Sénégal. Elle se distingue cependant par la forme des palpes, plus allongés et à base beaucoup plus grêle, et la couleur claire des pattes qui suffit tout de suite également à la différencier de *L. irritans* L. Bien que très rares et n'ayant encore été rencontrés qu'à Brazzaville, ces petites diptères sont intéressants à signaler, car il y a lieu de redouter pour l'Afrique, avec les progrès de la civilisation, une extension ultérieure du genre, comme cela s'est produit pour l'Amérique.

LYPEROSIA PALLIDIPES *n. sp.*

D'un gris noirâtre, à pattes jaune clair. Antennes en entier brun clair ; le chète antennaire à 6 ou 7 soies dorsales, entièrement noir. Palpes très pâles, d'un blanc jaunâtre, en massue, un peu plus longs et plus grêles que chez *L. Thirouxi*. Trompe rougeâtre, noire à l'extrémité. Hanches, fémurs, tibias, entièrement pâles. Les tarses un peu plus foncés aux derniers articles.

Tout le reste comme chez *L. Thirouxi*, ♀ ♀. Long, 2 à 3 millimètres.

Note biologique sur un type adapté de Simulium reptans du Congo équatorial.

Par E. ROUBAUD.

En parcourant les grandes plaines du pays M'Bochi et du pays Batéké, en bordure de l'Alima, dans le Congo équatorial, nous avons observé en de nombreux points l'existence d'une petite espèce de Simulies dont nous ne soupçonnions pas encore la présence en Afrique centrale. Jusqu'alors la seule forme connue, *S., damnosum* Theob., était une espèce exclusivement africaine, présentant une extension géographique énorme à travers toute l'Afrique équatoriale et tropicale ; et l'existence d'un appareil respiratoire larvaire, tout à fait spécial, développé sous la forme de branchies cloacales exsertiles en rapport avec les trachées, expliquait d'une façon intéressante la localisation exclusive de cette espèce dans les contrées très chaudes de l'Afrique.

La nouvelle forme dont il s'agit appartient au contraire à l'espèce européenne, d'ailleurs largement ubiquiste, *S. reptans* L.

Cette espèce est de taille plus petite (2 millimètres), de teintes plus uniformes et moins vives ; mais la constitution morphologique de ses griffes et de ses tarses, la forme de l'abdomen, bref tous les caractères spécifiques essentiels autorisent à la considérer comme une forme représentative de la plus commune des Simulies d'Europe.

Cette petite espèce est exclusivement et rès largement répandue dans tout l'Alima, depuis Tsambitnou (Sainte-Radegonde) jusqu'à Lékéti. On peut donc l'envisager comme caractéristique des plaines accidentées du pays équatorial. Or, en examinant ses larves, nous les avons trouvées pourvues des mêmes branchies trachéennes que celles antérieurement signa-chez les larves de *S. damnosum* Theob. Alors que les larves européennes ne présentent que trois courts cœcums rétractiles n'ayant pour assurer l'hématose qu'une valeur insuffisante, les

larves adaptées aux contrées chaudes présentent trois larges branchies pennées rétractiles à l'extérieur du cloaque, et en rapports intimes avec le système clos des canaux trachéens. La forme de ces appendices respiratoires d'adaptation est exactement la même que celle offerte par les larves de l'espèce strictement africaine ; le nombre des digitations disposées en gouttière, de part et d'autre de l'axe des trois branchies, varie avec l'âge des larves, mais paraît être sensiblement le même pour des larves de même âge chez les deux espèces. Il y a donc là un fait d'adaptation identique, particulièrement digne d'intérêt chez l'espèce ubiquiste qui est surtout fréquente dans les contrées froides ou tempérées.

Ces Simulies étaient particulièrement répandues, à l'époque de notre passage, dans la moyenne Alima. A Okoyo et à Lékéti (Haute-Alima), elles étaient sensiblement plus rares, mais, d'après les renseignements recueillis dans les diverses localités, commençaient seulement à faire leur apparition pour pulluler plus tard en saison sèche.

A Bounji (Saint-François), leur abondance était extrême et singulièrement importune. Les adultes fréquentent surtout les plaines semées de hautes termitières, qui regorgent de gros gibier. Dissimulées dans les hautes herbes, surtout au voisinage des marigots où viennent s'abreuver les antilopes, les bœufs sauvages et les éléphants, elles attendent le passage de leurs hôtes pour se gorger de leur sang. On les rencontre ainsi très loin des ruisselets superficiels, d'eau très courante, où les larves se développent. Au point de vue pratique, l'incendie des herbes de la brousse, surtout facile en saison sèche, est donc tout indiqué pour se débarrasser en partie de ce véritable fléau. Les piqûres de ces minuscules petites mouches sont en effet très douloureuses et provoquent une enflure locale assez persistante.

Enfin, nous avons observé, dans les marais du Stanley-Pool et dans les montagnes du « Couloir », à l'embouchure du Kassaï, quelques rares exemplaires d'une forme voisine de *S. aureum* Fries, de l'Europe septentrionale, mais de taille réduite. Il est vraisemblable qu'il s'agit encore ici d'une forme représentative, adaptée de même manière que la précédente à la vie dans les ruisselets des contrées chaudes.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE SEPTEMBRE 1907. N° 9

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Recherche sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la laccase

PAR M. GABRIEL BERTRAND.

Les expériences que j'ai publiées en 1897 sur le rôle du manganèse dans les phénomènes d'oxydation provoqués par la laccase [1] conduisent à envisager ce ferment soluble comme une combinaison métallique facilement hydrolysable, une sorte de sel se dédoublant par l'action de l'eau, d'une part, en un corps organique comparable à un acide faible, de l'autre, en oxyde ou plutôt en hydroxyde manganeux :

$$R''Mn + H^2O = R''H^2 + MnO$$

ou

$$R''Mn + 2H^2O = R''H^2 + Mn(OH)^2$$

Cette conception laisse prévoir que les acides doivent, en général, intervenir d'une manière défavorable sur le processus oxydant de la laccase. Il est clair, en effet, qu'un corps électro-négatif d'énergie supérieure au complexe $R''H^2$ doit déplacer celui-ci et donner, en s'emparant du manganèse, un système moins facilement hydrolysable, moins apte par conséquent à entrer en jeu dans la série catalytique de réactions dont mes expériences ont établi la probabilité. Bien plus, comme l'activité du complexe $R''H^2$ est sans doute très faible, la sensibilité de la laccase aux acides doit être très grande.

L'expérience montre qu'il en est réellement ainsi, qu'une quantité extraordinairement petite de certains acides suffit pour entraver et même annuler complètement l'action de la laccase.

1. *Compt. rend. Ac Sc.*, t. CXXIV, p. 1032 et p. 1355 (1897).

Je me suis servi, comme réaction d'épreuve, de la transformation du gayacol en tétragayacoquinone[1]. A 5 c. c. de solution aqueuse de gayacol à 2 0/0, on ajoutait des quantités connues d'acide et de laccase et on complétait avec de l'eau le volume de 10 c. c. Les tubes étaient ensuite abandonnés à eux-mêmes, à la température ordinaire (+ 22 à + 23°). Quand il y avait oxydation diastasique, on voyait les mélanges, incolores et limpides comme de l'eau, se colorer successivement en rose, puis en rouge grenadine, commencer à se troubler en passant au rouge pourpre et laisser déposer une poudre microcristalline de même couleur.

La laccase provenait du latex de l'arbre à laque du Tonkin (*Rhus succedanea* Linné fils). Elle était très active car 1/250000e, c'est-à-dire 0 gr., 00004 dans 10 c. c., donnait en 24 heures une coloration rose très nette à la solution de gayacol au centième. Avec une dose de 1/4000, la coloration apparaissait dans un intervalle de 5 à 10 minutes et la tétragayacoquinone commençait à se déposer après 1 heure 1/2 environ.

J'ai effectué un grand nombre d'expériences avec divers acides. Je donnerai d'abord les résultats que j'ai obtenus avec l'acide sulfurique.

Une quantité de cet acide correspondant à la dilution d'une demi-molécule-gramme dans 1000 litres d'eau (1/1000 normale ou N/1000)[2] arrête l'action oxydante de la laccase au 1/2000 ; il ne se fait pas de tétragayacoquinone et, malgré une attente de 24 heures, le mélange reste incolore et limpide.

Si on prend une plus petite proportion de laccase, l'arrêt de l'oxydation se produit avec moins d'acide. Il suffit d'une dilution 1/2000 normale (N/2000) pour arrêter l'action de la laccase au 1/4000 ;

D'une dilution 1/10000 normale si la laccase est au 1/20.000 ;

D'une dilution 1/20000 normale si la laccase est au 1/40.000 ;

1. G. Bertrand, *Compt. rend. Ac. Sc.*, t. CXXXVII, p. 1269 (1903), et *Ann. Inst. Pasteur*, t. XVIII, p. 116 (1904).

2. $SO^4 H^2$ bibasique ayant pour poids moléculaire 98, on obtient une solution normale, N/1, en diluant 98 : 2 = 49 gr. dans 1 litre d'eau.

D'une dilution 1/60000 normale si la laccase est au 1/200,000 [1].

Les quantités d'acide sulfurique qui, sans arrêter aussi complètement l'action du ferment soluble, l'entravent d'une manière appréciable, sont beaucoup plus petites. J'ai trouvé. avec une solution de laccase au 1/10,000 dans le gayacol à 1 0 0, que l'acide sulfurique est encore nettement actif à l'incroyable dilution d'une demi-molécule-gramme dans 500,000 litres, c'est-à-dire à la dilution absolue de 1/100.000.000 environ.

Si l'on se souvient qu'à l'aide du papier de tournesol, cependant si sensible quand il est bien préparé, on décèle à peine l'acide sulfurique libre à la dilution N/1000 et plus du tout à la dilution double, on peut apprécier combien la laccase dépasse en sensibilité les meilleurs réactifs de la chimie.

Les expériences aux grandes dilutions sont assez délicates; elles ne réussissent régulièrement qu'à la condition de prendre des précautions particulières. Il faut opérer avec du matériel très soigneusement nettoyé et employer dans les mesures des quantités de liquides qui ne soient pas trop petites.

J'ai obtenu de très bons résultats en opérant de la manière suivante. La verrerie, bien lavée d'abord à la manière ordinaire, était finalement passée à l'acide acétique au 100[e], puis rincée à fond, 5 ou 6 fois, avec de l'eau pure, égouttée et séchée. L'eau pure employée pour les derniers lavages et pour la préparation de toutes les liqueurs était préparée en redistillant de la bonne eau distillée dans le vide, avec un appareil muni d'un réfrigérant en argent.

Quant aux liqueurs titrées d'acides, on les obtenait par des dilutions successives, au 1/10, en préparant au moins 200 c. c. à chaque dilution.

Pour les déterminations colorimétriques, on a opéré les mélanges de gayacol, d'acide et de laccase, non pas dans des tubes, qui eussent présenté une trop petite surface de contact avec l'air par rapport au volume du liquide, mais dans des vases cylindriques de 5 centimètres de diamètre. En agissant

1. Il est vraisemblable que la solubilité des alcalis du verre suffit à saturer la plus grande partie de l'acide sulfurique ajouté lorsqu'on opère à de très grandes dilutions. Ainsi s'expliquerait la moindre sensibilité relative de la laccase aux acides dans le dernier mélange.

sur 20 c. c., et en agitant souvent, on assurait une oxygénation des liquides aussi satisfaisante que possible.

Voici les résultats de deux séries d'expériences effectuées, la première, à la température de + 22°, la seconde à la température de + 23°. Les examens au colorimètre ont eu lieu après 5 heures de contact. Les chiffres expriment les intensités des colorations, c'est-à-dire lesquantités relatives d'oxygène fixé à l'état de tétragayacoquinone.

ACIDITÉ en acide normal.	PROPORTION de laccase.	1re SÉRIE d'expériences.	2e SÉRIE d'expériences.
0	$\frac{1}{10.000}$	100	100
$\frac{1}{500.000}$	—	»	90,9
$\frac{1}{400.000}$	—	»	75,2
$\frac{1}{200.000}$	—	73,4	60,4
$\frac{1}{100.000}$	—	48,8	»
$\frac{1}{50.000}$	—	20,3	»

J'aurais pu essayer une dilution plus grande encore, telle que 1/1.000.000 de normale : l'effet eût certainement été mesurable, mais j'ai pensé qu'il valait mieux, au point de vue démonstratif, m'en tenir à des résultats tout à fait en dehors des erreurs expérimentales. Comme il n'est pas possible de se tromper de 9 0/0 dans une détermination colorimétrique portant sur une couleur rouge, l'influence paralysante de l'acide sulfurique sur la laccase, à l'extraordinaire dilution que j'ai indiquée, est indubitable.

Après avoir étudié l'action de l'acide sulfurique sur la laccase, il était tout indiqué d'examiner comparativement l'action d'autres acides. J'ai choisi, dans ce but, des représentants, soit minéraux, soit organiques, des groupes d'acides mono, bi et tri-basiques. J'ai fait réagir ces divers acides sur la laccase au 1/4000, à des dilutions variées, en général N/500, N/1000, N/2,000 N/5,000 et N/10000, le volume des mélanges étant chaque fois de 10 c. c. et renfermant un 100e de gayacol. La marche de la réaction a été notée après 1 heure, après 5 heures et après 24 heures, mais, pour ne pas allonger inu-

tilement la liste des résultats, je donnerai seulement l'état des mélanges après la dernière observation. Température des expériences : + 22 à +23°.

Acides monobasiques. — Ils comprennent : un acide minéral l'acide chlorhydrique ; trois acides de la série grasse en $C^nH^{2n}O^2$, l'acide formique, l'acide acétique et l'acide butyrique normal : un acide aromatique, l'acide benzoïque, et un acide alcool, l'acide lactique.

Tous ces acides arrêtent totalement l'oxydation à la dilution N/1000 et à peu près totalement déjà à la dilution N/2000. Dans la série des trois acides : formique, acétique et butyrique normal, c'est le dernier qui s'est montré le moins actif et, après lui, l'acide acétique ; il y avait un faible précipité de tétragayacoquinone, après 24 heures, avec l'acide en C^4, un commencement de précipité avec celui en C^2. Avec les autres acides : aucune coloration ou seulement une très faible coloration.

Acides bibasiques. J'ai pris les acides sulfurique, oxalique et tartrique. Ces acides paralysent totalement l'action de la laccase à partir de la dilution N/2000, c'est-à-dire d'une demi-molécule-gramme dans 2,000 litres. Les deux hydrogènes fonctionnels y possèdent donc la même activité que l'hydrogène fonctionnel des acides monobasiques examinés plus haut.

L'acide oxalique s'est montré un peu plus énergique que les acides sulfurique et tartrique. Tandis qu'à la dilution N/5,000 il y avait, après 24 heures, un précipité de tétragayacoquinone avec l'acide sulfurique, un commencement de précipitation avec l'acide tartrique, il n'y avait qu'une faible coloration avec l'acide oxalique.

Acides tribasiques. —J'ai examiné les acides borique, phosphorique, arsénique et citrique. Ils ont donné des résultats assez inattendus. Au lieu d'agir, comparativement aux autres acides, à la dose d'un tiers de molécule-gramme, il a fallu employer l'acide citrique à la dose d'une demi-molécule, les acides phosphorique et arsénique à celle d'une molécule entière. Quant à l'acide borique, il s'est montré pour ainsi dire, inactif.

L'acide phosphorique et l'acide arsénique ne renfermeraient donc qu'un seul atome d'hydrogène actif, comparable à celui de

l'acide chlorhydrique ou de l'acide formique. A la dilution d'une molécule-gramme dans 2,000 litres, il arrête totalement l'action de la laccase; à celle d'une molécule-gramme dans 5,000 litres, il y a précipitation de tétragayacoquinone.

L'acide citrique renfermerait, lui, deux atomes d'hydrogène actifs, comme les acides bibasiques : sulfurique, oxalique et tartrique. Une demi-molécule-gramme dans 2,000 litres paralyse complètement la laccase; dans 5,000 litres, elle laisse précipiter, en 24 heures, de la tétragayacoquinone.

L'acide borique, à ces grandes dilutions, n'a pas d'action appréciable; le gayacol est oxydé à peu près aussi vite qu'en milieu neutre. Si on augmente la quantité d'acide borique, l'atténuation devient sensible, mais très lentement. J'ai essayé l'acide borique jusqu'au plus grand degré de concentration possible, jusqu'à saturation (exactement 1 molécule-gramme dans 2 litres, ou 3. 1 0/0) : il y a eu encore oxydation diastasique. La coloration du liquide était même perceptible déjà après une heure, par comparaison avec un mélange témoin non additionné de laccase. Après 24 heures, le liquide était rouge grenadine, le témoin tout à fait incolore.

Cette inactivité pour ainsi dire complète de l'acide borique laisse bien supposer que les anomalies présentées par les acides phosphorique, arsénique et citrique sont dues à l'existence d'atomes d'hydrogène actifs à côté d'atomes d'hydrogène inactifs. Tandis que dans les acides bibasiques :

Sulfurique .... SO^4H^2
Oxalique.................. $CO^2H - CO^2H$
Tartrique .... $CO^2H - CHOH - CHOH - CO^2H$

les deux atomes d'hydrogène acides sont équivalents vis-à-vis de la laccase, de telle sorte qu'une demi-molécule de ces acides réagit aussi activement qu'une molécule d'un acide monobasique, il n'en est plus de même dans les acides.

Phosphorique............ $PO \begin{cases} OH \\ OH \\ OH \end{cases}$

Arsénique .... $AsO \begin{cases} OH \\ OH \\ OH \end{cases}$

Citrique .. .. $CO^2H - CH^2 - \underset{\displaystyle CO^2H}{\overset{\displaystyle OH}{C}} - CH^2 - CO^2H.$

Les deux premiers de ces acides tribasiques posséderaient un seul atome d'hydrogène actif et deux inactifs, le dernier, au contraire, deux actifs et un inactif.

J'ai cherché une confirmation de cette manière de voir dans l'action comparée des sels acides de potassium dérivés des acides polybasiques :

le sulfate monopotassique. SO^4HK

l'oxalate — $CO^2K - CO^2H$

le tartrate — $CO^2K - CHOH - CHOH - CO^2H$

le phosphate — $PO \begin{cases} OK \\ OH \\ OH \end{cases}$

l'arséniate — $AsO \begin{cases} OK \\ OH \\ OH \end{cases}$

le citrate — $CO^2K - CH^2 - \underset{\large CO^2H}{\overset{\large OH}{C}} - CH^2 - CO^2H$

et le citrate bipotassique $CO^2K - CH^2 - \underset{\large CO^2H}{\overset{\large OH}{C}} - CH^2 - CO^2K$

Conformément à ce qu'on pouvait prévoir, le sulfate, l'oxalate, le tartrate et le citrate monopotassiques ont réagi, ou à peu près, comme des acides monobasiques ; ils en ont présenté l'extrême activité — toutes choses égales d'ailleurs — à la dose d'une molécule-gramme.

Le phosphate et l'arséniate monopotassiques, le citrate bipotassique, au contraire, se sont rangés, n'ayant plus de libres que les fonctions inactives sur la laccase, à côté de l'acide borique.

Voici, avec plus de détails, les observations :

Le sulfate et l'oxalate monopotassiques se sont comportés exactement comme des acides monobasiques actifs : à la dose d'une molécule-gramme dans 2,000 litres, ils ont arrêté entièrement l'action de la laccase au 1/4000. A la dilution N/5000 l'oxalate s'est montré un peu plus actif que le sulfate, parallèlement à ce qui avait été observé avec les acides libres.

Pour l'acide tartrique et l'acide citrique, il y a eu, par saturation de l'un des carboxyles, une diminution de l'activité supérieure à la moitié, car, à la dilution d'une molécule-gramme de crème de tartre ou d'une demi-molécule-gramme de citrate monopotassique dans 1.000 litres, il y a eu encore une faible oxydation du gayacol. Cette diminution d'activité, supérieure à la moitié, s'explique d'ailleurs aisément. Dans l'acide tartrique, il y a deux oxhydriles qui tendent à contrebalancer, dans une certaine mesure, l'activité des groupements acides. Si on sature l'un de ceux-ci, l'influence des deux oxydriles se porte tout entière sur le seul carboxyle qui reste ; on fait disparaître l'égalité qui existait dans l'acide entre les deux groupements fonctionnels. Quelque chose d'analogue se passe avec l'acide citrique.

Le phosphate et l'arséniate monopotassiques, ainsi que le citrate bipotassique, ont été essayés jusqu'à la concentration d'une molécule-gramme dans un litre (solution normale ou N/1). On a observé une précipitation de tétragayacoquinone, ou au moins une coloration rouge pourpre, après 24 heures, jusqu'à N/10 ou N/5. Avec N/2, la coloration des mélanges était encore nettement visible ; enfin, avec N/1, on n'aperçoit qu'une teinte orangée, appréciable par comparaison avec des mélanges témoins, sans laccase, dont la couleur était alors jaune pâle.

Il faut observer ici que l'acidité n'entre pas seule en ligne de compte dans le ralentissement provoqué par les corps examinés en dernier lieu. A la concentration N/1, il y a par litre : 138 grammes de phosphate, 180 grammes d'arséniate et 268 grammes de citrate de potassium, supposés anhydres. La solubilité de l'oxygène et, par suite la vitesse d'oxydation du gayacol, doivent donc être notablement amoindries. En outre, il est probable que le phénomène d'hydrolyse qui intervient dans le processus oxydasique est lui-même partiellement entravé. Sans ces influences secondaires, le ralentissement de l'action oxydante serait encore moins sensible.

Ainsi, au point de vue de leur action sur la laccase, il existe dans les divers acides deux types d'hydrogène fonctionnel : l'un, doué d'une activité considérable, pouvant, à des doses infimes, arrêter toute oxydation ; l'autre, au contraire, inactif

ou pour ainsi dire inactif. D'où provient cette différence? C'est une question à laquelle il n'est pas encore facile de donner une réponse définitive. Cependant, si on consulte les tables des chaleurs de neutralisation des acides, on remarque que tous les hydrogènes actifs sur la laccase dégagent, quand on les remplace par le sodium, au moins 12 calories 6 dixièmes. Au contraire, les hydrogènes inactifs dégagent seulement, dans les mêmes conditions, une quantité de chaleur égale ou inférieure à 11 calories 6 dixièmes.

Ainsi, en saturant une molécule des acides suivants par une molécule de soude, on obtient, d'après les recherches de Thomsen, de Berthelot, de Berthelot et Louguinine :

	Calories
Avec l'acide chlorhydrique	13,7
— formique	13,4
— acétique	13.3
— butyrique	13,7
— lactique	13,5
— benzoïque	13,5
— sulfurique	15,85
— oxalique	14.3
— tartrique	12,95
— phosphorique	14.7
— citrique	12,6

Si on ajoute une seconde molécule de soude, on obtient :

Avec l'acide sulfurique encore	15,85
— oxalique —	14,3
— tartrique —	12,95
— citrique —	12,8

Au contraire, avec l'acide phosphorique, on n'obtient plus que 11 cal. 6. L'acide borique donne, quand on le sature avec une seule molécule de soude, 11 cal. 6, comme le second hydrogène fonctionnel de l'acide phosphorique.

L'acide carbonique, bibasique, donne par saturation complète à la soude 20 cal. 2, soit, pour une demi-molécule, 10 cal. 1. J'ai pensé qu'il devait, lui aussi, être inactif sur la laccase. Je l'ai essayé dans un appareil à sparklets, à une concentration voisine de N/4 ; le liquide a commencé à se colorer en rose après une heure un quart et, le lendemain, il renfermait un dépôt de tétragayacoquinone.

Il existe une méthode purement chimique pour distinguer les acides qui paralysent énergiquement la laccase de ceux qui

sont dépourvus de cette propriété. Elle consiste dans l'emploi de certains réactifs colorés, notamment de l'hélianthine, appelée aussi tropéoline, orangé III ou encore méthyl-orange. Cette couleur, préparée par la maison Poirrier, est le sel de sodium du diméthylaminoazobenzène sulfoné.

$$(CH^3)^2N - C^6H^4 - N = N - C^6H^4 - SO^3H$$

Tous les composés actifs sont acides à la fois à la phtaléine du *phénol*, au tournesol et à l'hélianthine. Les composés inactifs réagissent comme acides seulement avec la phtaléine et le tournesol; ils sont neutres à l'hélianthine.

Le parallélisme entre l'action des composés acides sur le colorant azoïque et sur la laccase est si complet, qu'il est possible de prévoir les plus petites particularités signalées au cours de ce mémoire d'après la manière dont est produit le virage de l'hélianthine. Les composés comme l'acide chlorhydrique, l'acide oxalique, qui, lorsqu'on les emploie à saturer un alcali, en présence de l'indicateur, déterminent un virage presque instantané, du jaune au rouge, dès qu'on vient à dépasser la quantité nécessaire à la saturation, sont ceux qui agissent sur la diastase oxydante avec le maximum d'énergie.

Les composés qui ne déterminent plus qu'un virage progressif paralysent encore la laccase à de grandes dilutions, mais, leur activité, déjà plus petite que celle des acides précédents, décroît au fur et à mesure de leur aptitude à faire virer l'indicateur. C'est ce qu'on observe très nettement, par exemple, avec la série des acides formique, acétique et butyrique. Le premier de ces acides, à virage rapide, se range à côté des acides les plus forts; l'acide acétique, et surtout l'acide butyrique, dont le virage est de plus en plus lent, doivent être employés, pour produire le même effet, à des doses de plus en plus fortes.

Les composés, enfin, comme l'acide borique, l'acide carbonique, le phosphate monopotassique, le citrate bipotassique, qui ne réagissent pas sur l'hélianthine sont sans action appréciable sur la laccase.

La méthode chimique pour la distinction des deux sortes d'acides est excessivement simple à employer. Elle est en même temps plus précise et plus générale que la méthode thermochimique.

L'acide citrique a donné à Thomsen, puis à Berthelot et Louguinine, des chaleurs de saturation à peu près égales pour les trois fonctions acides. Voici les chiffres empruntés à leurs tableaux [1].

				Calories
Chaleur de saturation	donnée par une	première	molécule de soude.	12,60
—	—	seconde	—	12,77
—	—	troisième	—	12,93

D'après la remarque que j'ai faite plus haut, le citrate bipotassique devrait paralyser la laccase. Il n'en est rien; la règle thermochimique est donc en défaut. Il n'en est pas de même si on examine l'action de l'acide citrique et des citrates sur l'hélianthine.

Quand on sature progressivement une solution alcaline par de l'acide citrique, en présence de cet indicateur, on voit le liquide rester jaune jusqu'au moment où il apparaît du citrate monosodique; à partir de ce moment, il prend une teinte orangée, puis rouge; dès qu'il y a de l'acide libre, il devient d'un beau rouge. Inversement, quand on sature l'acide par la soude, le liquide reste rouge tant qu'on n'a pas dépassé une molécule de soude pour une d'acide; si on continue à verser de l'alcali, la teinte passe au rouge orangé, puis, peu à peu, au jaune pur; cette dernière couleur est atteinte seulement quand on dépasse deux molécules de soude pour une d'acide. Conformément à cette manière de se comporter vis-à-vis de l'hélianthine, l'acide citrique libre réagit sur la laccase comme un acide bibasique puissant: le citrate monopotassique (ou monosodique) comme un acide monobasique à virage progressif; enfin, le citrate bipotassique est sans action.

La façon dont se comportent les divers atomes d'hydrogène électro-négatifs, soit de l'acide phosphorique, soit de l'acide citrique, lorsqu'on les met en présence de la laccase, révèle des différences qu'il était assez difficile de prévoir par le simple examen des formules, surtout en ce qui concerne l'acide phosphorique. Il paraît nécessaire de tenir compte, entre les trois fonctions acides de ces composés, d'une différence beaucoup plus grande qu'on le fait d'habitude.

Il peut arriver, dans certaines recherches sur la laccase, qu'on soit excessivement gêné par la présence des acides, en

1. *Annales Chim. Phys.*, 5e série, t. IX, p. 14 (1876).

particulier quand il s'agit d'évaluer comparativement le pouvoir oxydasique de plusieurs sucs végétaux. Des différences très petites, même inappréciables aux réactifs les plus sensibles, dans le degré d'acidité de ces sucs, suffisent pour fausser complètement les résultats, pour en renverser quelquefois le sens. Beaucoup de sucs végétaux renferment assez d'acides (tartrique, citrique, oxalique, etc.), libres ou partiellement combinés, pour empêcher totalement l'action de la laccase. Il est un moyen de parer à cette circonstance défavorable, c'est de remplacer l'acidité des sucs par celle d'un acide inactif. Si on ajoute, par exemple, un peu de phosphate bipotassique, même en solution fortement acidifiée au tournesol par du sel monopotassique, à un liquide dans lequel la laccase est paralysée par un acide fort, on voit réapparaître le processus d'oxydation. Chose paradoxale au premier abord : la solution ajoutée, fortement acide au tournesol, rétablit l'activité d'un ferment soluble que paralysait une dose d'un autre acide, à peine suffisante pour impressionner le réactif colorant.

En pratique, on peut opérer de plusieurs façons pour faire disparaître l'acidité nuisible d'un liquide oxydasique. La plus simple consiste à neutraliser en présence de tournesol ou de phtaléine, à dépasser même très légèrement la dose d'alcali nécessaire, puis à revenir à une minime acidité avec de l'acide borique, du phosphate monopotassique ou du citrate bipotassique.

Dans ces expériences, j'ai utilisé une préparation de laccase très active et très pauvre en matières minérales; elle n'apportait donc dans les solutions que des traces de sels étrangers. C'est pourquoi les résultats ont été si nets.

Il en serait autrement si on opérait avec des sucs cellulaires ou des préparations riches en sels et, de plus, relativement pauvres en laccase. On pourrait très bien trouver alors que l'addition d'une petite quantité d'acide acétique ou sulfurique est presque sans effet, simplement parce que l'acide aurait été neutralisé, au sens de l'action antidiastasique, par la présence d'un sel d'acide inactif, comme un phosphate ou un citrate. C'est seulement à partir d'une certaine proportion d'acide ajouté, en rapport avec la quantité de sel neutralisant, qu'on percevrait un arrêt de la laccase. A moins d'employer compara-

tivement divers indicateurs colorés, parmi lesquels l'hélianthine, on ne pourrait analyser les phases du phénomène et on conclurait à l'existence d'une proportion critique d'acide au-dessus de laquelle le ferment soluble deviendrait très vite paralysé.

Ceci montre, d'une manière très générale d'ailleurs, avec quel soin il faut étudier à la fois au point de vue qualitatif et au point de vue quantitatif, la réaction des milieux où s'accomplissent des transformations diastasiques.

Les faits qui sont exposés dans ce mémoire apportent une notion nouvelle à la connaissance, encore très imparfaite, de la constitution chimique de la laccase.

Nous savions que ce ferment soluble est assimilable à un sel manganeux, mais nous ignorions tout de la nature du radical électro-négatif lié au métal. L'étude de l'action des acides sur la laccase, nous permet d'évaluer aujourd'hui le degré d'activité chimique de ce radical, de le ranger, approximativement, à côté du diméthylaminoazobenzène sulfoné. Est-ce un acide de la série des polysaccharides? est-ce un acide aminé, une substance protéique? C'est un point au sujet duquel nous sommes pour le moment réduits aux suppositions. On peut, d'ailleurs, d'après mes précédentes recherches, entrevoir non pas une oxydase, mais une série d'oxydases manganeuses, différentes les unes des autres par la nature du radical électro-négatif.

J'ajouterai, pour terminer, que les faits observés en étudiant l'influence des acides sur la laccase, paraissent susceptibles d'une certaine généralisation. Non seulement ils s'appliquent, dans leurs grandes lignes, à la tyrosinase, mais sans doute aussi à des ferments solubles d'un type bien différent, à des diastases hydrolysantes. Ainsi, d'après les observations de Fernbach[1], corroborées par celles de Maquenne et Roux[2], la saccharification de l'amidon par l'extrait de malt atteint son maximum d'intensité dans un milieu contenant des phosphates primaires, mais exempt d'acide phosphorique libre, c'est-à-dire neutralisé exactement à l'hélianthine. Peut-être y a-t-il, le manganèse mis à part, quelque rapport insoupçonné entre la diastase du malt et l'oxydase de l'arbre à laque?

1. *C. R. Ac. des Sciences*, t. CXLII, p. 285 (1906). Voir aussi Fernbach et Wolff, *id.*, t. CXLV, p. 261 (1907).
2. *C. R. Ac. des Sciences*, t. CXLII, p. 124 (1906).

ROLE DES BACTÉRIES
dans le développement de certains Myxomycètes

Par Ernest PINOY

(*Suite et fin.*)

III

RECHERCHES SUR LES MYXOMYCÈTES ENDOSPORÉS

Dans la nature, les Myxomycètes endosporés se rencontrent le plus souvent sur les feuilles mortes, la mousse, les branches de bois mort et sur les vieux troncs d'arbres pourris.

Rien n'est plus facile que d'en avoir des cultures au laboratoire, en y transportant les fragments de bois ou les feuilles mortes qui les portent. Ces matériaux sont mis dans des assiettes que l'on recouvre d'une cloche. Il suffit de les arroser dès le début. On soulève ensuite de temps en temps la cloche de manière à maintenir un état d'humidité et d'aération convenable. J'ai pu obtenir ainsi sur les mêmes fragments de bois, pendant plusieurs années consécutives, des cultures d'*Arcyria ferruginea*, de *Trichia varia*, de *Comatricha obtusata* et de *Stemonitis fusca*.

Ce sont des procédés de cultures analogues qu'ont employé la plupart des savants, Cienkowsky, Rostafinsky, de Bary, Lister, qui ont étudié le développement de ces Myxomycètes.

Je rappellerai brièvement les essais de culture en milieu plus ou moins artificiel que quelques auteurs ont réalisés.

Cienkowski (6) a obtenu les plasmodes de *Licea pannorum* (*Perichæna populina* Fries) en ensemençant les spores sur des carottes pourries. Il a cultivé *Didymium libertianum* (*Didymium difforme* Duby) dans l'eau.

Ward (35) étudie en gouttes pendantes, dans une décoction de jacinthes, un Myxomycète qu'il ne détermine pas (il s'agit probablement du *Didymium difforme*) et qu'il avait trouvé sur des racines de jacinthes cultivées dans de l'eau contenant un peu de sel de chaux, de magnésie, de potasse et de soude. La chambre humide était aseptisée au préalable et il obtenait ainsi une culture ne renfermant exclusivement que des Bactéries.

Stahl et, après lui, Strasburger (31) emploient pour le *Chondrioderma difforme* (*Didymium difforme*) un milieu analogue à celui de Ward. Ils ensemencent les spores dans une décoction de tiges de Fève; puis ils font plonger dans cette décoction des tiges du même végétal, et sur celles-ci ils voient se former les plasmodes et les appareils sporifères. Ensch (9) a répété les expériences de ces auteurs et fait remarquer qu'il est curieux de voir que les plasmodes se forment uniquement sur les tiges de Fève et non sur les parois du récipient. Cela tiendrait à ce que la tige de Fève laisse diffuser dans le liquide de culture une substance chimique exerçant sur les amibes une influence chimiotaxique. Toutes les amibes sont attirées vers la tige de Fève et l'on comprend que les plasmodes ne puissent se former que là.

Dans un travail fait au laboratoire de Pfeffer, Stange (30 *bis*) avait déjà montré que les myxamibes de *Chondrioderma* étaient attirées dans des tubes capillaires contenant de l'extrait de Fève. Toutes les cultures de ces auteurs sont très impures. Les Bactéries, les Flagellates, les Amibes y pullulent.

Comme Ward, Miller (19) obtient des cultures où les seules impuretés sont des Bactéries. Il cultive ainsi *Physarum cinereum*, un *Stemonitis*, *Chondrioderma* (*Didymium*) *difforme*, *Didymium microcarpon* (*Didymium nigripes* Fries). Son milieu de culture consiste en une solution de foin ou d'eau additionnée de 2 0/0 de lait. Il y fait plonger des brindilles de foin et le tout est stérilisé.

Dans un travail récent, Constantineanu (8) dit avoir pu réussir des cultures de Myxomycètes dans les solutions suivantes : Knop 1 0/0, dextrine 1 0/0, glucose 2, 5 0/0, ou bien Knop 1 0/0, dextrine 5 0/0. Il a soit seulement les plasmodes, soit quelquefois aussi les appareils de fructification d'*Æthalium septicum*, *Physarum didermoides*, *Didymium effusum*, *Badhamia macrocarpa*, *Leocarpus vernicosus*, *Amaurochæte atra*, *Chondrioderma reticulatum*.

Dans son étude, Contanstineanu ne s'est occupé ni de la pureté de ses cultures, ni du rôle que les Bactéries pouvaient y jouer en modifiant la composition du milieu.

Peut-on obtenir une culture pure de Myxomycètes endosporés?

Il faut pour cela avoir des spores pures [1]. Jusqu'ici je n'ai pu y réussir. Je n'ai pu y réussir pour deux raisons;

1. J'entends par spores pures, des spores qui, mises dans un tube de bouillon, laisseront ce bouillon indéfiniment stérile.

1° Parce que l'intérieur des sporanges de Myxomycètes est rempli d'impuretés (Bactéries, spores de Champignons, kystes de Protozoaires);

2° Parce que les spores des Myxomycètes endosporés ne résistent pas à un chauffage un peu élevé en milieu humide. Comme elles sont accompagnées de Bactéries sporulées, l'éther et le chloroforme ne peuvent donner aucun résultat.

Pour donner une idée de la quantité d'impuretés contenue dans un sporange de Myxomycète, je vais exposer le résultat d'une numération des germes uniquement bactériens contenus d'une part dans un sporange jeune, d'autre part dans un sporange mûr de *Trichia varia*, développé sur bois dans une assiette sous cloche.

Le sporange jeune est prélevé à l'aide de pinces flambées. Puis, la calotte supérieure est enlevée à l'aide de l'extrémité d'une pipette chauffée au rouge. Avec une autre pipette, il est facile de vider le sporange de son contenu. Le contenu étant dilué dans l'eau ordinaire stérile, on fait une numération approximative des germes par ensemencement dans la gélatine répartie dans des boîtes de Pétri. Sans tenir compte des germes inaptes à se rajeunir, nous trouvons 200 colonies pour un sporange qui n'a certainement pas 2 millimètres cubes de capacité.

Les germes les plus fréquents sont les *Bacillus fluorescens* var. *liquefaciens* et var. *putridus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus luteus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus violaceus*, *Sarcina aurantiaca*.

Pour le sporange mûr, le nombre obtenu a été plus fort, 375 colonies, mais il faut tenir compte de la manière d'opérer qui est différente et qui introduit une cause d'erreur. En effet, on est forcé de faire éclater le sporange avec une pointe flambée au-dessus d'une boîte Pétri stérile, puis de reprendre par l'eau le contenu de la boîte Pétri; or, forcément, il y a un peu de débris de membrane qui amènent des germes étrangers.

Ne pouvant avoir des spores pures, ne pouvant par conséquent avoir recours immédiatement à la méthode synthétique, j'ai procédé par analyse.

Un sporange de *Didymium difforme* est prélevé aseptiquement et mis dans une boîte de Pétri stérile. On le fait éclater avec une pointe flambée. Les spores ainsi disséminées sont recueillies peu à peu à l'aide d'une spatule stérile trempée

dans de l'eau stérilisée et réparties à la surface d'une gélose nutritive, dans un grand nombre de tubes.

Cette gélose est préparée de la manière suivante :

20 grammes de gélose sont mis à laver dans un courant d'eau pendant 24 heures. Puis on les rince à plusieurs reprises dans l'eau distillée. Enfin on les met dans un litre d'eau, dans lequel on ajoute 20 grammes de bois pourri. Le tout chauffé à 115° est réparti après filtration dans les vases de culture et l'on stérilise par chauffage à 114° pendant 1/4 d'heure.

Les tubes ensemencés sont laissés à la température du laboratoire. Un petit nombre de tubes, examinés après quelques jours, ne montrent aucune culture ni de Bactéries, ni du Myxomycète. Le plus grand nombre montre dès le début des cultures très variées de Bactéries, d'Amibes, de Flagellates. Enfin d'autres, d'aspect beaucoup plus pur, montrent des zoospores dans l'eau de condensation. Sur ceux-ci, on ne tarde pas à voir paraître des plasmodes, puis des appareils sporifères.

Le développement de *Didymium difforme* peut être très rapide et s'effectuer en moins de 4 jours.

C'est parmi ces tubes que j'ai pu trouver *Didymium difforme* en culture pure mixte avec une Bactérie. Cette Bactérie isolée et ajoutée aux tubes qui, contenant des spores de *Didymium difforme*, étaient restés stériles a permis le développement complet de *Didymium difforme*.

Cette Bactérie a la forme d'un bâtonnet d'une longueur de 2 à 3 μ et d'une largeur de 1 μ environ. Elle est immobile et prend le Gram. On y observe la formation des spores tantôt au milieu, tantôt près de l'une des extrémités.

Les colonies sur plaques de gélatine sont nummulaires, d'un beau jaune : elles ne liquéfient pas la gélatine. Le bouillon se trouble et il y a formation d'un voile à la surface.

Sur gélose la strie d'ensemencement est plus ou moins épaisse, jaune, luisante avec des rugosités.

D'après ces caractères, cette bactérie se rapproche de *Bacillus luteus* Flügge.

En ajoutant cette même Bactérie à des tubes de gélose de bois contenant des spores de *Didymium effusum* qui ne s'étaient pas développées, j'ai réussi à produire l'évolution complète de ce Myxomycète.

Des essais, faits avec quelques autres Bactéries (*B. fluorescens*, *B. coli*), ne m'ont donné aucun résultat. D'où j'ai conclu que si cette Bactérie n'est pas absolument nécessaire (certaines Bactéries peuvent peut-être jouer le même rôle), du moins elle est très favorable.

En résumé, tandis que jusqu'ici on n'avait eu que des cultures très impures, je suis arrivé à cultiver deux espèces de Myxomycètes endosporés avec une seule Bactérie, montrant ainsi que l'on peut comme pour les Amibes, comme pour les Myxomycètes acrasiées, avoir des cultures pures mixtes de Myxomycètes endosporés.

OBSERVATIONS SUR LES CULTURES DE *Didymium difforme* ET DE *Didymium diffusum*.

Lorsque les colonies bactériennes sont séparées à la surface du milieu, on remarque que les plasmodes se forment toujours au niveau des colonies bactériennes. Peut-être faudrait-il chercher là l'explication du fait que dans les expériences de Stahl, d'Ensch, les plasmodes se forment seulement sur les tiges de Fève. En effet, alors que le milieu liquide est épuisé, n'est plus convenable pour la culture des Bactéries qui s'y trouvent, la tige de Fève offre aux Bactéries un bon milieu de culture et par suite attire les myxamibes.

Lorsque les plasmodes vont fructifier, ils fuient les colonies bactériennes et l'humidité.

Pourtant si l'on fait la culture en milieu liquide, en vase d'Erlenmeyer selon la méthode de Miller, on voit qu'avant de fructifier, le plasmode qui est sorti du liquide se nourrit encore par osmose durant quelque temps.

Il laisse quelques fins prolongements plonger dans le liquide. Puis, à un moment, ces prolongements se rétractent eux-mêmes, le plasmode se rassemble en plusieurs petites masses qui se tranforment en sporanges.

Il arrive assez fréquemment soit que le substratum soit trop sec, soit que la gélose soit couverte de Bactéries, de voir *Didymium effusum* former son appareil sporifère dans l'eau de condensation. Dans ces conditions le pied avorte, le capillitium est très réduit ; les spores sont mêlées d'éléments arrondis beau-

coup plus gros dont la membrane sans ornements est plus épaisse et ne présente pas la réaction de la cellulose; ce sont de véritables kystes.

Il n'est pas rare d'observer l'existence de kystes semblables dans les sporanges de nombreux Myxomycètes.

Je les ai constatés dans des sporanges de *Leocarpus vernicosus*, d'*Arcyria ferruginea*, de *Trichia varia*.

Il faut sans doute attribuer à la présence ou à l'absence de ces kystes les opinions contradictoires des auteurs relatives à la durée de la vitalité des spores.

On ne doit pas oublier que chez les Myxomycètes les kystes sont les véritables formes de résistance tandis que les spores ne sont que des organes de dissémination.

J'ai eu des plasmodes de *Didymium effusum* par l'ensemencement de kystes datant de cinq ans.

Les kystes supportent très bien l'action des solutions alcalines concentrées. J'avais vu là un moyen de purification des Myxomycètes. Seulement les plasmodes obtenus, quoique associés avec *Bacillus luteus*, n'ont jamais donné d'appareils de fructification.

La même chose s'est produite dans mes cultures pures mixtes successives de *Didymium difforme* et de *Didymium effusum*. Après plusieurs ensemencements fructueux, le milieu et les conditions extérieures étant les mêmes, il n'y a plus eu dans les cultures que production de plasmodes qui se transformaient en sclérotes (amas de kystes).

Il y a lieu par suite de se demander si, pour la fructification, il n'est pas nécessaire qu'il y ait une conjugaison préalable de plasmodes de signes différents (+ et —), de même qu'il faut deux thalles différents, chez certaines Mucorinées, d'après les recherches de Blakeslee pour la production de l'œuf. Dans cette hypothèse, il n'y aurait plus eu dans mes cultures que des plasmodes de même signe.

Ensch a fait sur *Didymium difforme* l'observation suivante : les spores qui germent sur milieu solide donnent directement une myxamibe.

J'ai pu vérifier ce fait et voir qu'il en est de même pour *Didymium effusum*. La zoospore ne se produit qu'en milieu liquide.

Dans les mêmes conditions, sur milieu solide, j'ai observé la germination des spores de *Spumaria alba*. La masse protoplasmique et le noyau des spores se divisent en deux, en quatre, puis en huit, et on a huit myxamibes.

IV

RECHERCHES SUR LE *PLASMODIOPHORA BRASSICÆ*

Depuis le travail classique où Woronin montrait que la « hernie » du Chou est due à l'introduction d'un parasite, le *Plasmodiophora brassicæ*, dans les cellules de la racine du végétal, ce Myxomycète a été l'objet de nombreux travaux cytologiques dont les plus complets sont ceux de Nawaschin et de Prowazek; même quelques auteurs, comme Podwyssotzki ont voulu voir une certaine relation entre lui et le cancer de l'homme.

Sa biologie au contraire a été peu étudiée et cependant c'est son étude biologique qui seule pourra permettre de trouver le moyen de le combattre avec efficacité. Car ce parasite occasionne des pertes considérables et une fois qu'il a envahi une culture de Choux, il n'y a pas d'autres remèdes que d'abandonner cette culture.

Les recherches que j'ai précédemment exposées sur les Myxomycètes endosporés et acrasiés, m'ont amené à rechercher si les Bactéries ne jouaient pas un rôle dans le développement de ce parasite.

En souillant avec des spores de *Plasmodiophora brassicæ* la terre contenue dans des pots où j'avais ensemencé des graines de *Brassica oleracea*, j'ai reproduit l'infection expérimentale.

Les petites tumeurs produites sur les racines des jeunes plants furent fixées dans le liquide de Flemming-Borrel, dont la composition a été indiquée plus haut, et incluses dans la paraffine. Les coupes ont été colorées de la manière suivante d'après une méthode de Borrel :

Mordançage au tannin à 1 0/0 pendant 1/2 heure; surcoloration à la thionine, puis différenciation par la même solution de tannin.

Cette méthode (Planche XV, fig. 8) colore très bien le parasite et ses noyaux sont bien visibles, formés d'un karyosome (K) central entouré d'une zone claire limitée par une membrane et

plongés au milieu d'un protoplasme granuleux contenant de nombreuses gouttelettes d'huile colorées en noir par l'acide osmique. En outre dans les cellules envahies par le parasite et dont le noyau (N) présente toujours une hypertrophie du nucléole (*n*), on distingue au milieu des granulations protoplasmiques et de leucites, de petits amas (B) morphologiquement semblables à des amas de Bactéries. Ils sont très fortement colorés et sont constitués par des formes soit *coccus* soit *bacille*, isolées ou bien associées par deux.

L'observation microscopique ne pouvait donner qu'une indication et on ne pouvait conclure avec certitude que les zoospores du parasite en pénétrant dans les racines de la plante y avaient introduit des Bactéries. Il était nécessaire de le démontrer par la méthode des cultures.

Mes premières recherches furent faites avec les petites tumeurs que j'avais à ma disposition. Je fis des prélèvements aseptiques dans un grand nombre d'entre elles en brûlant la surface avec un fer rougi et puisant dans l'intérieur avec une pipette stérile. L'ensemencement du contenu de la pipette dans du bouillon donna toujours lieu à une culture bactérienne.

Mais étant donné le peu de volume des tumeurs, je ne pouvais brûler très profondément; il pouvait y avoir là une cause d'erreur.

J'ai eu alors un matériel de choix dans des tumeurs, grosses comme le poing, formées sur *Brassica sinensis* [1]. Ces tumeurs ne présentent aucune trace de pourriture; sur la coupe, elles sont d'une blancheur magnifique.

La surface d'une de ces tumeurs est, comme précédemment, brûlée profondément en un point avec un fer rouge et des prélèvements aseptiques sont opérés au moyen de pipettes flambées.

Les prises ainsi faites contiennent un grand nombre de spores du parasite. Ensemencées en bouillon, sur gélatine, sur gélose, elles donnent lieu à un abondant développement de Bactéries. Dans les cultures bactériennes ainsi obtenues, on rencontre presque toujours des Bactéries fluorescentes.

Ainsi en s'introduisant dans la racine du Chou, le parasite y introduit des Bactéries. Quel rôle jouent-elles?

1. Ces tumeurs m'avaient été obligeamment fournies par M. le professeur Mangin.

Pour étudier ce point particulier, il était nécessaire de faire des cultures du parasite, de pouvoir suivre en tube le développement de *Plasmodiophora brassicæ*.

J'ai pu réussir à obtenir le développement expérimental du *Plasmodiophora brassicæ*, en employant la même technique dont Matruchot et Molliard (16) s'étaient servis pour la culture du *Phytophthora infestans*. Ces auteurs ont en effet cultivé le Champignon de la maladie de la Pomme de terre en l'ensemençant sur des fragments prélevés aseptiquement dans l'intérieur d'une pomme de terre à l'aide d'un emporte-pièce stérile. De même, je me suis servi de l'emporte-pièce que Borrel a fait construire pour prélever aseptiquement des morceaux de tissu cancéreux; l'instrument était stérilisé au four à flamber, la surface de jeunes navets était profondément brûlée au brûle-peau. On pouvait ainsi prélever aseptiquement des fragments que l'on mettait dans des tubes flambés. Ces tubes étaient ensemencés avec des spores prélevées elles-mêmes aseptiquement, comme plus haut, à l'intérieur des tumeurs. Ils étaient fermés à la lampe et placés à l'étuve à 22°.

Il se produit dès les premiers jours une culture discrète de Bactéries aérobies, culture bientôt arrêtée par suite de l'épuisement de l'oxygène. Cinq jours déjà après l'ensemencement, on trouve à l'intérieur des cellules du fragment de navet, le *Plasmodiophora* à divers stades, plusieurs cellules sont même bourrées de spores.

Répétons la même expérience en tubes ouverts, en tubes simplement bouchés au coton : les Bactéries aérobies qui accompagnent les spores pullulent et amènent la pourriture du navet.

J'ai avantageusement modifié la technique que je viens d'exposer par l'emploi de l'huile de vaseline. En effet, il arrive souvent que les spores sont souillées, non seulement de Bactéries aérobies, mais aussi de Bactéries anaérobies; dans ce cas, les gaz produits par la fermentation arrêtent l'évolution du Myxomycète et en même temps le tube est transformé en une bombe dangereuse. On évite de fermer le tube, en mettant de l'huile de vaseline stérilisée dans les tubes, de manière à recouvrir complètement les fragments de navets.

Ainsi, de même que, d'après les recherches de Matruchot et Molliard, la pourriture dans la maladie de la Pomme de terre est causée par les Bactéries introduites par le Champignon (dans les cultures pures du *Phytophthora infestans* sur la Pomme de terre, on ne constate en effet jamais de pourriture), de même la pourriture de la hernie du Chou est due aux Bactéries introduites dans la racine par le parasite. Ces Bactéries se mettent à pulluler quand les conditions extérieures sont favorables et on sait que ces conditions sont un terrain humide, la pluie. Tout le tissu des racines se détruit et il n'en reste absolument que la partie fibreuse.

On peut voir ici une véritable symbiose entre le Myxomycète et les Bactéries.

Le Myxomycète entraîne les Bactéries avec lui, et les amène dans un milieu qui leur deviendra extrêmement favorable; de leur côté les Bactéries en détruisant la racine du Chou mettront en liberté les spores du parasite qui sont incluses dans les cellules.

En outre il semble que les Bactéries soient nécessaires à la vie extracellulaire du parasite.

En effet, des spores ayant été ensemencées sur un grand nombre de tubes de gélose à l'eau, la plupart de ces tubes contenant des Bactéries ont donné lieu à un début de développement : j'ai pu y observer la formation de zoospores, puis d'amibes extrêmement petites qui s'arrondissent et ont alors un diamètre de 3 à 4 μ. Ces amibes périssent le plus souvent, mais, parfois, elles s'entourent d'une membrane qui ne présente pas la réaction de la cellulose et qui se colore en jaune par l'iode. Avec ces petits kystes, j'ai reproduit l'infection expérimentale et les cultures.

Je n'ai pas constaté l'évolution des spores dans les tubes où il n'y avait pas de culture bactérienne.

CONCLUSIONS

1° Par l'étude de trois espèces d'Acrasiées, de deux Myxomycètes endosporés et enfin d'une espèce parasite, je crois avoir établi la grande importance que peut prendre l'association des Bactéries dans le groupe des Myxomycètes. Que certains

Myxomycètes puissent vivre avec d'autres microbes ou même se nourrir uniquement par osmose, c'est à démontrer;

2° Dans la nature, les spores de Myxomycètes ne sont jamais pures, qu'elles soient contenues dans du mucus comme chez les Acrasiées, dans un sporange comme chez les Endosporées, dans une cellule de la racine d'un végétal comme chez une espèce parasite, *Plasmodiophora brassicæ*. Jusqu'ici on ne connaît pas de Myxomycète capable de vivre en culture pure. Mais il est possible d'avoir des cultures dites *cultures pures mixtes*, où le Myxomycète est en association avec une seule Bactérie;

3° J'ai réalisé la culture pure mixte de trois Acrasiées, *Dictyostelium mucoroides*, *Dictyostelium purpureum*, et *Polysphondylium violaceum* avec diverses Bactéries:

4° Ces Myxomycètes sont parasites des colonies bactériennes. Leurs myxamibes ingèrent les Bactéries et les digèrent dans leurs vacuoles à l'aide d'une diastase voisine de l'amibodiastase;

5° J'ai montré l'importance taxinomique que peuvent prendre les pigments des Bactéries chromogènes associées. J'ai fait en même temps quelques recherches sur la coloration vitale des myxamibes par les pigments bactériens:

6° J'ai ajouté des observations sur la cytologie et le développement de l'appareil sporifère des Acrasiées étudiées;

7° J'ai réalisé la culture pure mixte avec *Bacillus luteus* Flügge de *Didymium effusum* et de *Didymium difforme*, deux Myxomycètes endosporés; j'ai donné des remarques sur ces cultures;

8° Enfin, en étudiant le développement d'un Myxomycète parasite des racines des Crucifères, le *Plasmodiophora brassicæ*, à l'aide de cultures faites *in vivo* et *in vitro*, j'ai mis en évidence le rôle que jouent les Bactéries introduites dans les racines par le Myxomycète. Ce sont elles qui amènent la pourriture lorsque les conditions extérieures deviennent favorables à leur pullulation. Ici, j'ai pu montrer qu'il s'agissait d'une vraie symbiose.

BIBLIOGRAPHIE

1. — De Bary A. *Die Mycetozoen (Schleimpilze)*. Leipzig. 1864.

2. — Beyerinck. Culturversuche mit Amöben auf festem Substrate. *Centralbl. f. Bakt.* I. Abth. Bd XIX. 1896.

3. — Brefeld. *Dictyostelium mucoroides*, ein neuer Organismus aus Verwandtschaft der Myxomyceten. *Nat. gesellschaft.* Bd VII, 1869. — *Polysphondylium violaceum und Dictyostelium mucoroides* nebst Bemerkungen zur Systematik der Schleimpilze, *Unters. aus dem Gesammtgebiete der Mykologie.* Heft VI, 1884.

4. — Celakowski L. Ueber die aufnahme lebender und todter verdaulicher Körper in die Plasmodium der Myxomyceten. *Flora*. Bd LXXVI, 1892.

5. — Chrzaszcz. *Physarum leucophaeum*, eine hefe fressende Amöbe. *Centralblf. Bakt.*, 1902, 2e partie. t. VIII.

6. — Cienkowski. Zur Entwickelungsgeschichte der Myxomyceten, *Jahrbücher für wiss. Botanik.* Bd III, 1863.

7. — Clatchie Mc. Notes on germinating myxomycetous spores, *Botan. gazette*, t. XXX, 1894.

8. — Constantineanu. Ueber die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten, *Ann. myc.*, vol. IV, no 6.

9. — Ensch. Notes sur les Myxomycètes, *Trav. Laborat. Wimereux*, t. VII, 1899.

10. — Frosch. Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. *Centralbl f. Bakteriologie*, I Abth. Bd XXI, 1897.

11. — Grimm. Ueber den Bau und die Entwickelungsgechichte von *Dictyostelium mucoroides* (d'après Potts).

12. — Jahn. Myxomycetenstudien : 4 Die Keimung der Sporen. *Bot Ges.* t. XXIII, 1905.

13. — Krukenberg. Ueber die Enzymbildung der Geweben und Gefässen. *Untersuch. d. phys. Instit. Heidelberg*, t. II, 1878.

14. — Lister. Notes on the plasmodium of *Badhamia*, *Ann. of Botan.*, t. II. 1888; — Note on the Ingestion of food material by the swarmcells of Mycetozoa. *Journ. Lin. Soc.* London, t. XXV, 1890. — Mycetozoa. London, 1894.

15. — Matruchot. Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. *Trav. Lab. Wimereux*, t. VII, 1899.

16. — Matruchot et Molliard. Culture du *Phytophthora infestans*. Lons-le-Saunier, 1901.

17. — Mesnil. Recherches sur la digestion intracellulaire et les diastases des Actinies, *Ann. de l'Institut Pasteur*. t. XV, 1901.

18. — Metchnikoff. Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation. Paris, 1892. — Sur l'acide des Plasmodes. *Ann. de l'Inst. Past.*, t. III, 1889.

19. — Miller. The aseptic cultivation of Mycetozoa. *Quaterly Journal of microscopical science*. Vol. XLI, 1899.

20. — Mouton. Recherches sur la nutrition des Amibes et sur leur diastase intracellulaire, *Ann. de l'Instit. Pasteur*. t. XVI, 1902.

21. — Nadson. Des cultures de *Dictyostelium mucoroides* et des cultures des Amibes en général. *Script. botanica*, fasc. XV, Saint-Pétersbourg, 1899.

22. — Nawaschin. Beobachtungen über der feineren Bau und umwandlungen von *Plasmodiophora brassicæ* Woron. im Laufe ihres intracellularen Lebens, *Flora*, 1899, Bd. LXXXVI, 5 Heft.

23. — Olive. Monograph of the Acrasieæ, *Proceedings of the Boston Society of Natural History*, vol. XXX, nº 6.

24. — Pfeffer. *Pflanzen physiologie*, I. Bd, Leipzig, 1897

25. — Pinoy. Nécessité de la présence d'une Bactérie pour obtenir la culture de certains Myxomycètes, *Bull. Société mycol. de France*. t. XVIII, 3e fascicule, 1902; — Nécessité d'une symbiose microbienne pour obtenir la culture des Myxomycètes, *C. R. Acad. des Sc.*, t. CXXXVII, 1903; — Rôle des Bactéries dans le développement du *Plasmodiophora brassicæ*, Myxomycète parasite produisant la hernie du Chou. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LVIII, p. 1010, 1905.

26. — Potts. Zur Physiologie des *Dictyostelium mucoroides*. *Flora*, Bd XCI, 1902.

27. — Prillieux. *Maladies des plantes agricoles*, Paris, 1897, t. I, p. 40.

28. — Prowazek. Ueber den Erreger der Kohlhernie, *Plasmodiophora brassicæ*, und die Einschlüsse in den Carcinomzellen. *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsammte*, t. XXII, pp. 396-410, 1905.

29. — Schroeder. Ueber den Nachweis einiger Enzyme in den Fruchtkörper der lohblüte, *Beitrag. zur chem. Physiol. und Pathol.* IX Band 1906.

30. — Stahl. Zur logei Bio der Myxomyceten. *Botan Zeitung*, 1884, nos 10-12.

30 bis. — Stange. Ueber chemotaktische Reizbewegungen. *Botan. Zeit.*, p. 107, 1890.

31. — Strasburger. *Das Botanische Practicum*, 1902, p. 474.

32. — Tsujitani. Ueber die Reincultur der Amöben, *Centralbl. f. Bakt.* Bd XXIV, 1898.

33. — Van Tieghem. Sur quelques Myxomycètes à plasmode agrégé, *Bull. Soc. Bot. de France*, t. XXVII, p. 317-322.

34. — Vuillemin. Une Acrasiée bactériophage. *C. R. Acad. des Sc.*, t. CXXXVII, 1903.

35. — Ward. The morphology and physiology of an aquatic myxomycete *Studies from the biological laboratories of the Owens college*, vol. I, 1886

36. — Woronin. Uber die Krankheit der Kohlgewachse. *Jahrbücher f. Wissenschaft. Bot. herausgeg. von Pringsheim*, t. XI, 1878.

37. — Zaubitzer. Studien über eine dem Strohinfus entnommene Amöbe. *Centralbl. f. Bakt.* I, Abth. Bd XXX, 1900.

EXPLICATION DES PLANCHES

(Voir ces *Annales*, n° 8, pl. XIII à XVI).

PLANCHE XIII

Fig. 1. — Photographie d'une culture de *Dictyostelium purpureum*. On voit que les appareils sporifères partent tous des colonies bactériennes et se dirigent vers le fond de la boîte, vers la lumière dont la direction est indiquée par la flèche.

Fig. 2. — *a*, myxamibe de *Dictyostelium mucoroides*: on voit son noyau. — Photographie d'une préparation colorée à l'hématoxyline au fer.

Fig. 3. — *a*, myxamibe de *D. mucoroides* dont le noyau s'est divisé.

b, myxamibe de *D. mucoroides* provenant d'une division: les deux chromosomes ne se sont pas encore séparés. Grossissement : 1200.

PLANCHE XIV

Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11. — Germination de la spore de *D. mucoroides*. Les grains chromatiques sont colorés en rouge. Coloration à la méthode Laveran

Fig. 12. — Jeune myxamibe dont le noyau est en voie de division.

Fig. 13. — Jeune myxamibe se divisant.

Fig 14. — Jeune myxamibe émettant des pseudopodes lobulés.

Fig. 15. — Jeune myxamibe à l'état de repos.

Fig. 16, 17. — Myxamibe dont le noyau s'est divisé.

Fig. 18. — Myxamibe dont les chromosomes se divisent.

Fig. 19. — Myxamibe après la division. Les deux chromosomes sont encore réunis.

20. — Myxamibes encore réunies.

Fig. 21, 22, 23. — Diverses formes de myxamibes.

Fig. 24, 25. — Formes de division.

Les figures 12 à 25 proviennent de préparations de *D. mucoroides* colorées à l'hématoxyline au fer.

Fig. 26, 27, 28, 29, 30. — Myxamibes d'une culture de 40 heures d'après des préparations colorées par la méthode Laveran. — On peut voir un grand nombre de Bactéries en voie de digestion à l'intérieur des vacuoles. N, noyau, B, Bactéries.

Tous les dessins sont faits au grossissement de 900.

PLANCHE XV

Fig. 1 et 2. — Myxamibes de *Dictyostelium purpureum* d'une culture de 40 heures. Coloration méthode Borrel : rouge de Magenta, picro indigo carmin. On voit de nombreuses Bactéries dans les vacuoles. N. noyau, B. Bactéries.

Fig. 3. — Myxamibe de *Dictyostelium purpureum*. Coloration par la thionine. Le noyau N n'est pas distinct. Les Bactéries se voient bien dans les vacuoles.

Fig. 4, 5, 6, 7. — Myxamibes de *Polysphondylium violaceum*, culture de 40 heures. Coloration par la méthode Laveran.

Fig. 8. — Coupe d'une tumeur de racine de chou due au *Plasmodiophora brassicœ*. N. noyau des cellules du parenchyme, n, nucléole, g, grains d'amidon,

K noyaux du parasite. Les points noirs sont des granulations de graisse noircies par l'acide osmique. C, cellule envahie dont le noyau est en karyokinèse. B, Bactéries.

Tous les dessins sont faits au grossissement de 1000.

PLANCHE XVI

Fig. 1. — Coupe sagittale d'un amas de myxamibes. Début de formation de l'appareil sporifère. C, masse d'amibes devenant claires et vacuolaires; ébauche de la formation du pied. Grossissement : 75.

Fig. 2. — Coupe transversale d'une masse un peu plus âgée, le pied P s'est différencié. Grossissement : 150.

Fig. 3. — Coupe sagittale d'une masse de même âge montrant la torsion de la masse en même temps que celle du pied P. Grossissement : 50.

Fig. 4. — Coupe sagittale montrant le pied P formé au début de l'élévation de la masse sporifère. Grossissement : 50.

ACTION ANTISEPTIQUE DU MÉTHANAL SEC

aux différentes températures sur les germes microbiens
et en particulier sur les spores du " Bacillus subtilis "

PAR L. PERDRIX

Dans un précédent mémoire[1], j'ai montré la rapidité de l'action destructive exercée par le méthanal sec sur les spores du *bacillus subtilis*, à la température de 100°. Pour ces expériences, j'employais un appareil dont j'ai donné la description, qui permet de maintenir, à volonté, les objets dans une atmosphère saturée d'aldéhyde formique. Le même appareil m'a servi à effectuer des essais entre 15° et 100°; et ce sont les résultats de ces expériences qui font l'objet du présent mémoire.

I

ACTION DU MÉTHANAL SEC SUR LES SPORES DU « BACILLUS SUBTILIS ».

Avant de passer à l'exposé des résultats, je préciserai d'abord aussi nettement que possible les conditions expérimentales dans lesquelles je me suis placé.

Le microbe sur lequel j'opère est un subtilis vivace, donnant en 24 heures à 38° un voile abondant, gras et épais. On le cultive dans du bouillon de bœuf alcalin léger, placé sans précaution spéciale dans une cuvette en porcelaine. Le lendemain, il s'est formé un beau voile. La culture est additionnée de son volume d'eau, puis violemment secouée dans un flacon, afin de dissocier le voile autant que possible. Des morceaux de flanelle sont trempés dans ce liquide, égouttés, puis desséchés à la température ordinaire. Telle est la substance qui m'a servi dans toutes mes expériences. — Cette flanelle est ainsi recouverte de germes de subtilis, mais sans couche glaireuse ou albumineuse : bien que très chargée de spores, elle paraît peu différente, à l'œil et au toucher, du même tissu non contaminé. On la découpe en

1. PERDRIX, Transformation reversible du trioxyméthylène en méthanal. Application à l'étude de la stérilisation par le méthanal sec aux températures élevées. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XX, 1906, page 881.



Fig. 1.



Fig. 2.

morceaux de 2 c^2 environ de superficie ; puis ceux-ci sont pliés en quatre dans de petits carrés de papier à filtre. Ces derniers sont ensuite empilés régulièrement 10 par 10 dans un autre morceau de ce même papier, qui est fermé et ficelé en croix de façon à former un paquet unique.

Ces paquets d'expérience sont introduits dans l'appareil à méthanal, pendant un temps déterminé et à la température choisie. On les abandonne ensuite 24 heures dans le laboratoire pour leur permettre de perdre par diffusion le gaz antiseptique dont ils sont imprégnés; puis on les ouvre aseptiquement par l'une des extrémités. Chacun des petits paquets partiels est successivement extrait avec une pince flambée, puis introduit directement dans le tube à culture, où il s'ouvre de lui-même, mettant la flanelle au contact du bouillon stérilisé. Les tubes d'essais, maintenus à 38°, sont examinés chaque jour pendant six semaines.

J'ai indiqué dans mon premier mémoire (*loc. cit.*) que, la température de l'appareil d'exposition étant fixée, la tension du gaz méthanal est elle-même exactement déterminée. A 70°, par exemple, la tension maxima de l'aldéhyde est de 210 ^{mm}. Les résultats que je vais exposer ont toujours été obtenus en plaçant les spores en atmosphères ainsi saturées de méthanal.

La contamination certaine de la flanelle par un subtilis très résistant était manifestée par l'expérience suivante : des paquets furent chauffés à sec dans une étuve à 100°, *sans méthanal*, respectivement pendant 2, 5 et 10 heures. Après refroidissement, les petits morceaux de flanelle furent introduits aseptiquement dans du bouillon stérilisé.

Tous les tubes renfermant des spores chauffées 2 heures à 100° étaient altérés le lendemain et présentaient un voile très marqué. Après 5 heures de chauffe, tous furent encore contaminés, mais avec un léger retard : sur 10 tubes, 3 seulement étaient altérés le lendemain, 2 le surlendemain, et les 5 derniers le troisième jour. Après 10 heures de chauffe à 100°, les retards à la culture furent plus marqués ; mais tous les tubes subirent encore une altération au bout de quelques jours.

Ces expériences témoins montrent que les spores de subtilis sur lesquelles j'opérais résistaient plus de 10 heures à 100° en étuve sèche : il n'y avait donc aucun doute sur leur vitalité. Ce point étant acquis, il était possible d'opérer en toute sécurité et

par comparaison, en présence de méthanal saturé, aux différentes températures.

Les résultats sont consignés dans la série des tableaux suivants :

I. — *Température* : 100°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience.	NOMBRE DES TUBES Altérés.	PROPORTION des tubes altérés.
2 minutes	10	10	100 0/0
3 —	10	9	90 —
4 —	10	3	30 —
5 —	10	0	»
6 —	10	0	»

II. — *Température* : 90°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience.	NOMBRE DES TUBES Altérés.	PROPORTION des tubes altérés.
4 minutes	10	10	100 0/0
5 —	38	25	65 —
6 —	10	6	60 —
7 —	10	1	10 —
8 —	10	0	»
10 —	30	0	»
15 —	20	0	»
20 —	20	0	»

III. — *Température : 80°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés
	En expérience.	Altérés	
3 minutes	10	10	100 0/0
6 —	10	7	70 —
8 —	10	10	100 —
9 —	10	3	30 —
10 —	26	10	38 —
12 —	20	10	50 —
15 —	20	1	5 —
20 —	37	7	19 —
22 —	10	0	»
25 —	20	0	»
30 —	10	0	»

IV. — *Température : 70°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DE TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
4 minutes..............	10	10	100 0/0
8 —	10	10	100 —
12 —	10	10	100 —
15 —	30	19	63 —
20 —	20	3	15 —
25 —	30	8	26 —
30 —	30	5	16 —
45 —	10	0	»
1 heure..............	30	0	»
1 h. 15′..............	20	0	»
1 h. 30′..............	10	0	»

V. — *Température : 60°*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DE TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
30 minutes...............	20	19	95 0/0
35 —	10	10	100 —
40 —	30	27	90 —
1 heure.................	20	9	45 —
1 h. 20'................	20	11	55 —
1 h. 30'................	10	4	40 —
1 h. 40'................	20	0	»
2 heures................	20	0	»
2 h. 30'................	20	0	»
3 heures................	10	0	»

VI. — *Température : 50°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
30 minutes..............	10	10	100 0/0
35 —	10	10	100 —
40 —	20	18	90 —
45 —	10	6	60 —
1 heure................	30	13	40 —
1 h. 30'...............	10	9	90 —
2 heures...............	10	8	80 —
3 h. 30'...............	10	2	20 —
4 heures...............	20	0	»
5 —	10	0	»
6 —	20	0	»
7 —	10	0	»

VII. — *Température : 40°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience.	NOMBRE DES TUBES Altérés.	PROPORTION des tubes altérés.
1 jour	20	2	10 0/0
2 jours	10	0	»
3 —	10	0	»
4 —	10	0	»
5 —	10	0	»
6 —	10	0	»

VIII. — *Température : 30°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience.	NOMBRE DES TUBES Altérés.	PROPORTION des tubes altérés.
1 jour	10	10	100 0/0
2 jours	10	4	40 —
3 —	20	1	5 —
4 —	20	0	»
5 —	20	0	»
6 —	10	0	»

IX. — *Température : 26°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience	NOMBRE DES TUBES Altérés.	PROPORTION des tubes altérés
1 jour	10	10	100 0/0
2 jours	10	5	50 —
3 —	10	3	30 —
4 —	10	1	10 —
5 —	10	0	»
6 —	10	0	»

X. — *Température* : 18°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience.	Altérés.	PROPORTION des tubes altérés.
2 jours	10	10	100 0/0
3 —	10	10	100 —
4 —	10	10	100 —
5 —	10	8	80 —
6 —	10	9	90 —

XI. — *Température* : 15°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES En expérience.	Altérés.	PROPORTION des tubes altérés.
2 jours	10	10	100 0/0
3 —	10	10	100 —
4 —	10	10	100 —
5 —	10	7	70 —
6 —	10	7	70 —
7 —	10	7	70 —
9 —	10	3	30 —

Les tableaux précédents indiquent nettement la marche de la stérilisation aux différentes températures; mais il convient d'en rassembler les principaux résultats dans une vue d'ensemble et c'est le but du tableau général suivant (colonnes 3 et 4).

Tableau général représentant les durées nécessaires à la destruction des germes de subtilis aux diverses températures.

TEMPÉRATURE 1	DURÉES DE STÉRILISATION		LIMITE des cultures expérimentales. 4
	Calculées d'après la formule théorique. 2	Observées expérimentalement. 3	
100°	5 minutes.	5 minutes.	4 minutes.
90°	10 —	8 —	7 —
80°	22 —	22 —	20 —
70°	33 —	45 —	30 —
69°	2 h. 35′.	1 h. 40′.	1 h. 30′.
50°	8 h. 20′.	4 heures.	3 h. 35′.
40°	25 heures.	25 —	24 heures.
30°	3 jours 5 heures.	Plus de 3 jours.	3 jours.
26°	5 jours 9 heures.	5 jours.	4 —
18°	15 jours.	Plus de 6 jours.	90 0/0 à 6 jours.
15°	24 —	Plus de 9 jours.	30 0/0 à 9 —

Il est possible, jusqu'à un certain point, de coordonner tous ces résultats, en les rassemblant dans une formule empirique, qui serait la suivante :

$$D = \frac{17 . 10^7}{t\, T^2}$$

D exprimant la durée de la stérilisation en minutes, *t* la température de l'action et *T* la tension de transformation du trioxyméthylène à cette température *t*. La colonne 2 du précédent tableau indique les durées calculées d'après cette formule.

Il serait illusoire d'ajouter à cette relation algébrique plus d'importance qu'il ne convient : il est évident qu'elle ne peut représenter intégralement les faits, l'action n'étant pas, *a priori*, absolument nulle à 0°. Il n'en est pas moins vrai qu'elle rassemble convenablement, entre 15° et 100°, les résultats expérimentaux.

Ce qui ressort de la façon la plus frappante de l'examen du tableau d'ensemble, c'est l'augmentation considérable de la durée nécessaire pour la stérilisation, au fur et à mesure que la température s'abaisse. S'il suffit de 5 minutes à 100° pour détruire

complètement les germes du subtilis, c'est par heures qu'il convient de compter à 60°, et par journées à 26°. Mes expériences ne laissent pas le moindre doute sur ce point : elles ont été effectuées en double, par deux séries complètes, à plusieurs mois d'intervalle, sur deux subtilis analogues, mais non identiques; et les conclusions ont été absolument semblables.

II

ACTION DU MÉTHANAL SATURÉ SEC, AUX DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES, SUR LES GERMES CONTENUS DANS L'EAU D'ÉGOUTS

L'eau d'égouts qui m'a servi dans les expériences que je vais relater ici a été prise, comme l'année dernière [1], à l'Usine élévatoire du quai de Rive-Neuve, n° 23. Mais, s'il est un liquide de composition variable, c'est bien celui dont il s'agit : tandis que l'eau d'égouts de février 1906 ne contenait que quelques rares germes de subtilis, celle d'octobre en renfermait des proportions beaucoup plus considérables.

Des bandes de flanelle furent trempées dans cette eau d'égouts fraîche, égouttées et séchées : ce fut la matière employée dans les expériences.

Comme pour le subtilis, les germes furent essayés à sec, à 100°, sans méthanal (expérience témoin) :

3 paquets renfermant chacun 10 morceaux de flanelle contaminée furent chauffés à 100°, respectivement pendant 2, 5 et 10 heures. — Mis en tubes à la façon ordinaire, ils fournirent les résultats suivants :

Tous les paquets maintenus à 100° pendant une durée égale ou inférieure à 2 heures ne parurent nullement affectés par ce chauffage et donnèrent lieu à des cultures abondantes dès le lendemain. — Pour ceux qui avaient été portés 5 heures à 100°, il y avait déjà une action, manifestée par un retard très appréciable dans l'apparition des cultures : sur 10 tubes de contrôle, l'un commença à s'altérer le 11e jour seulement, et les autres, sans exception, suivirent du 16e au 20e jour. — Après 10 heures de chauffe à 100°, le premier tube de contrôle ne présenta un commencement d'altération que le 17e jour; les autres firent tous de même entre le 18e et le 25e jour. Dans tous les cas, les

1. *Ann. de l'Institut Pasteur, loc. cit.* — N° V, 1906, Page 888.

germes qui présentaient ainsi des résistances considérables à l'action de la chaleur seule étaient des subtilis.

Quoi qu'il en soit, les paquets directement infectés par l'eau d'égouts furent soumis aux mêmes essais que ceux qui étaient effectués avec les cultures de subtilis et dont les résultats sont exposés dans la première partie de ce mémoire. Les deux opérations étaient toujours faites en même temps et dans des conditions complètement identiques; elles étaient donc bien comparables.

Comme ces expériences sont moins fondamentales que celles de la première partie, je ne donnerai les résultats détaillés qu'à 100°, 26° et 15°. Pour les autres températures, j'indiquerai simplement le résumé général.

I. — *Température* : 100°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
20 secondes	10	10	100 0/0
40 —	10	10	100 —
1 minute	10	10 (*subt.*)	100 —
1 m. 20"	10	3 (*subt.*)	30 —
1 — 40"	10	2 (*subt.*)	20 —
2 minutes	20	0	»
2 m. 30"	10	0	»
3 minutes	10	0	»

II. — *Température* : 26°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
1 jour	10	7 (*subt.*)	70 0/0
2 jours	10	3 (*subt.*)	30
3 —	10	0	»
4 —	10	0	»
5 —	10	0	»
6 —	10	0	»

III. — *Température : 15°.*

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
2 jours.................	10	10	100 0/0
3 —	10	10	100 —
4 —	10	4 (*subt.*).	40 —
5 —	10	0	»
6 —	10	0	»
7 —	10	0	»
9 —	10	0	»

Tableau général récapitulatif représentant, par comparaison, les durées nécessaires à la destruction des spores de subtilis et des germes de l'eau d'égouts.

TEMPÉRATURE	SUBTILIS		GERMES DE L'EAU D'ÉGOUTS	
	Durée de la stérilisation.	Dernière culture.	Durée de la stérilisation	Dernière culture.
100°	5 minutes.	4 minutes.	2 minutes.	1 min. 40″.
90°	8 —	7 —	4 —	3 minutes.
80°	22 —	20 —	10 —	8 —
70°	45 —	30 —	30 —	25 —
60°	1 h. 45′.	1 h. 30′.	50 —	40 —
50°	4 heures.	3 h. 30′.	3 heures.	2 h. 30′.
40°	25 —	24 heures.	24 heures.	Rien à 24 h.
25°	5 jours.	4 jours.	3 jours.	2 jours.
15°	Plus de 9 jours.	30 0/0 à 9 jours.	5 —	4 jours.

Ces résultats peuvent être résumés de la façon suivante : les spores de subtilis présentent au méthanal sec une résistance incomparablement plus marquée que les autres germes, et cela à toute température. — A 100°, après 40 ou 60 secondes d'expo-

sition seulement, il y a déjà dans les cultures un retard très accentué : celles-ci ne débutent que le 3e ou le 4e jour. — De plus, tous les germes qui échappent à la stérilisation à partir de 1 minute environ d'exposition au méthanal sec saturé à 100° sont uniquement des spores de subtilis. — Un examen attentif des tableaux ci-dessus et de la marche des cultures montre que les observations précédentes peuvent être généralisées pour toutes les températures.

III

PUISSANCE DE PÉNÉTRATION DU MÉTHANAL SATURÉ AUX TEMPÉRATURES ÉLEVÉES. — APPLICATION A LA DÉSINFECTION, A SEC, DES OBJETS SOLIDES.

Les conclusions du présent mémoire et de celui qui l'a précédé justifient l'emploi du méthanal pour la désinfection et même la stérilisation, à sec, des objets solides à haute température.

Il restait cependant, au point de vue pratique, à étudier d'un peu plus près la question de la pénétration de l'aldéhyde. J'ai déjà exposé [1] que le pouvoir pénétrant de ce gaz, à haute température, est considérable. Cependant, si les objets sont enfermés, s'ils sont plus ou moins serrés ou compacts, il est évident *a priori* que le méthanal ne peut se disséminer instantanément en tous leurs points et qu'il doit en résulter un retard à l'action. Ce fait est d'ailleurs nettement manifesté par les expériences que j'ai décrites pour la température de 100°.

Des livrets contaminés, de la flanelle et du drap infectés par du subtilis, soumis à l'action directe du méthanal sec à 100°, ainsi que je l'ai indiqué dans mon premier mémoire (pages 889-890), ont été stérilisés en moins de 5 minutes ; avec la même flanelle en paquets de 10 morceaux enfermés, superposés et serrés, la limite de stérilisation est légèrement retardée : 5 minutes au lieu de 4 [voir ci-dessus].

J'ai cherché à préciser un peu plus cette question. Pour cela, il convenait de réaliser des conditions où la pénétration fût particulièrement difficile, et voici comment j'y suis arrivé :

1re *série d'expériences*. — Un œuf est broyé tout entier, jaune et blanc, dans un mortier, et bien délayé avec 100c environ de

1. *Ann. de l'Institut Pasteur, loc. cit.* — 1906, N° V. Pages 890 et suivantes

bouillon. Le liquide, placé dans une cuvette plate, est additionné d'une culture de subtilis impure.

Dans ce bouillon, j'introduis, dès l'origine, un large morceau de flanelle qui y baigne tout entier. Le tout est placé à l'étuve à 38°. — Dès le lendemain, il s'est formé un voile très abondant. Le surlendemain, la culture devient visqueuse et présente une odeur intense d'albumine putréfiée; le quatrième jour, elle est complètement sèche. — La flanelle est ainsi extrêmement contaminée; elle a une couleur jaune sale, une odeur forte et désagréable, un aspect rugueux et raccorni; elle a perdu toute souplesse et se tient comme un carton léger. — On la découpe alors en morceaux de 3 à 4 centimètres de longueur sur un centimètre de largeur. Chaque morceau est plié en quatre et enfermé dans du papier à filtre. — 10 de ces petits paquets élémentaires, de forme rectangulaire, sont assemblés comme toujours, par superposition, daus un grand morceau de papier à filtre, fortement tassés, et le tout est fermé et ficelé en croix.

Dans de telles conditions, la pénétration des gaz devait certainement être très difficile, d'abord à cause de la superposition des étoffes, mais surtout à cause de la couche glairo-albumineuse déposée sur la flanelle et dans ses pores, et de la quadruple application de cette couche dans chacun des petits paquets partiels.

Expérience. — 7 paquets d'ensemble sont mis au stérilisateur à 100° pendant des durées variant de 5 à 25 minutes. — On les abandonne ensuite 24 heures dans le laboratoire et on introduit les petits paquets partiels dans des tubes de bouillon stérilisé. A ce moment, leur odeur est fétide et encore très marquée : il ne semble pas que le méthanal saturé à 100° ait beaucoup agi comme désodorisant. Voici les résultats obtenus :

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
5 minutes................	10	10	100 0/0
7 —	10	10	100 —
9 —	10	7	70 —
12 —	10	5	50 —
15 —	10	4	40 —
20 —	10	1	10 —
25 —	10	0	»

La pénétration du méthanal a donc été plus lente et plus pénible ; elle était cependant complète en 25 minutes. Le nombre des spores restées vivaces au bout de 20 minutes devait être très restreint, si l'on en juge par la faible proportion des tubes altérés (un seul) et le long retard à la culture (22 jours).

Aux températures un peu supérieures à 100°, l'action est encore beaucoup plus rapide : ces mêmes paquets, si difficiles à stériliser, ne résistent pas 5 minutes au méthanal sec saturé à 120°, ainsi que le montre l'expérience suivante :

Température : 120°.

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
5 minutes..............	10	0	»
7 —	10	0	»
9 —	10	0	»
12 —	10	0	»
15 —	10	0	»
20 —	10	0	»
25 —	10	0	»

Aux températures inférieures à 100°, la pénétration devient rapidement très difficile et même illusoire. Ainsi, à 90°, ces

mêmes paquets n'ont pu être stérilisés qu'en une heure au minimum. — A 80°, 3 heures étaient à peine suffisantes pour arriver au même résultat. — A partir de 70°, c'est par journées qu'il faut compter. — A 60°, 3 jours étaient insuffisants pour une stérilisation complète, et au-dessous de cette température, il m'a été impossible de fixer une limite, même approximative.

La diffusion du gaz antiseptique devient donc de plus en plus difficile au fur et à mesure que la température s'abaisse ; ce qui se comprend, le méthanal se rapprochant alors de son point de liquéfaction.

2e *Série d'expériences.* — Essais de pénétration à travers la laine à matelas.

Un paquet de 10 petits morceaux de flanelle imprégnée de subtilis (chapitre I) a été entouré de laine à matelas, que l'on enroule et que l'on tasse avec soin autour de lui, de manière à bien le laisser au centre. On enferme complètement toute cette laine dans un papier à filtre et l'on ficelle en croix.

Une série de paquets semblables est soumise à l'action du méthanal saturé, à 100°, pendant des durées variant de 4 à 30 minutes. On les abandonne ensuite 24 heures dans le laboratoire et l'on met en tubes de bouillon stérilisé les petits paquets partiels correspondants. Voici les résultats obtenus :

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés.	
4 minutes	10	10	100 0/0
6 —	10	2	20 —
8 —	10	3	30 —
10 —	10	0	»
15 —	10	0	»
20 —	10	0	»
25 —	10	0	»
30 —	10	0	»

On voit que, dans ce cas, 10 minutes ont suffi pour la stérilisation. — A 120°, cette dernière était complète en moins de 5 minutes.

Les mêmes expériences ont été effectuées avec du kapock, substance qui est très employée depuis quelque temps, à cause de son prix, pour la confection des matelas et surtout des traversins.

Les résultats ont été identiques, et les voici :

DURÉE DU SÉJOUR dans le méthanal saturé.	NOMBRE DES TUBES		PROPORTION des tubes altérés.
	En expérience.	Altérés	
4 minutes	10	6	60 0/0
6 —	10	0	0
8 —	10	2	20 0/0
10 —	10	0	»
15 —	10	0	»
20 —	10	0	»
25 —	10	0	»
30 —	10	0	»

A 120°, 5 minutes suffisent encore pour produire une stérilisation complète.

IV

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Les résultats exposés dans le présent mémoire et dans celui qui l'a précédé fixent nettement la question de la stérilisation des germes microbiens, et du *Bacillus subtilis* en particulier, par le méthanal sec, aux différentes températures. Les durées nécessaires pour arriver à une stérilisation complète augmentent rapidement et régulièrement au fur et à mesure que la température s'abaisse. Cette régularité est même assez marquée pour que, malgré des écarts considérables allant de quelques minutes à plus de 10 jours, on puisse les représenter assez exactement par une formule algébrique.

D'autre part, cette étude fournit une idée nette des conditions dans lesquelles il convient de se placer pour l'emploi du méthanal comme antiseptique.

Aux températures ordinaires, s'il s'agit par exemple d'une désinfection d'appartement, il est illusoire de songer à obtenir une stérilisation absolue. La destruction intégrale des germes ne sera jamais réalisée ; car il y aura nécessairement insuffisance, soit dans la saturation de l'atmosphère par le méthanal, soit dans la durée d'exposition, soit surtout dans la pénétration du gaz antiseptique dans les parties profondes des objets. Au point de vue pratique cependant, il conviendra de se placer dans les conditions les plus favorables à la destruction des microbes et, dans ce but, de tenir grand compte de la différence de rapidité d'action avec la température. Les expériences relatées ci-dessus montrent que, pour une stérilisation complète, s'il suffit de 25 heures à 40°, il faut 3 jours à 30° et plus de 10 jours à 15°. Si, par une généralisation logique, nous étendons à tous les germes et, en particulier, à ceux des microbes pathogènes les conclusions fournies par mes expériences, nous pouvons penser que, pour produire le même effet bactéricide, il faut beaucoup plus de temps à 15-18° qu'à 26-30°. D'où la conclusion suivante que l'hygiéniste devra toujours avoir présente à l'esprit : la désinfection d'un appartement par l'aldéhyde formique sera d'autant plus rapide que la température sera plus élevée ; et, pratiquement, des différences relativement petites dans le degré se répercuteront d'une façon considérable sur le résultat. Le meilleur appareil à désinfection sera celui qui permettra d'élever le plus facilement la température et de fournir le plus sûrement l'aldéhyde, dans l'appartement, à une pression égale à la tension de transformation.

S'il s'agit d'objets solides susceptibles d'être portés sans détérioration aux températures élevées, tels que papiers, livres, instruments, tentures, étoffes, matelas, etc., la stérilisation et par suite la désinfection seront rapidement et facilement obtenues. A ces températures, et à condition d'opérer en atmosphère saturée de méthanal, la pénétration de l'aldéhyde est facile et par suite l'action très efficace.

J'ai déjà réalisé, sur ces principes, un appareil employé à la désinfection rapide des livrets de caisse d'épargne au moment des dépôts. Grâce à l'initiative de son président, M. Eugène Rostand, la Caisse d'épargne des Bouches-du-Rhône utilise dans ce but, depuis le commencement de février, des

stérilisateurs construits d'après mes indications. Ces appareils présentent une forme analogue à celle que j'ai décrite antérieurement ; ils n'en diffèrent que par la disposition du cylindre mobile formant *chambre d'exposition* des objets. Ce dernier, de 14 centimètres de diamètre, présente, ainsi que le tube fixe qui lui sert de support, des fentes longitudinales disposées de telle sorte que, en le manœuvrant de l'extérieur de droite à gauche ou de gauche à droite, autour de l'axe commun des deux cylindres, on puisse, à volonté et sans ouvrir, établir ou supprimer la communication entre la chambre centrale, où se produit le gaz antiseptique, et la chambre d'exposition. Une porte ferme cette dernière à l'avant et permet l'introduction et l'extraction des objets.

Au moment des dépôts, les livrets, au nombre de cinq à sept, sont placés séparément dans un panier cylindrique en toile métallique de dimensions convenables. On ouvre la porte, on introduit le panier et l'on ferme. Par un brusque mouvement de droite à gauche, on établit la communication entre les deux chambres. Deux minutes après environ, on fait la manœuvre inverse : on ouvre et l'on remplace le panier par un autre. L'opération totale dure ou maximum trois minutes : on désinfecte ainsi 140 livrets à l'heure. L'encre, le papier ne sont nullement altérés ; l'odeur de méthanal n'incommode pas : aucune personne (employé ou déposant) n'a fait d'observation à ce sujet.

En dehors des heures des dépôts, le même appareil est encore utilisé à la Caisse d'épargne des Bouches-du-Rhône pour la désinfection des bons de pain destinés aux indigents.

Des étuves de plus grandes dimensions et de formes différentes, fondées sur les mêmes principes, sont actuellement en construction ; elles réaliseront le but que je me suis proposé depuis l'origine de mes recherches : la stérilisation et, par suite, la désinfection rapide et à sec des objets solides.

Note complémentaire sur le microbe de la coqueluche

Par les Drs J. BORDET et O. GENGOU.

(Institut Pasteur de Bruxelles.)

Afin de faciliter la tâche aux bactériologistes qu'intéresseraient la culture et l'étude du microbe de la coqueluche, il ne sera pas inutile que nous complétions quelque peu les renseignements fournis dans notre premier article[1].

Les recherches que nous avons poursuivies depuis l'année dernière ont pleinement confirmé la conviction que nous avions cru pouvoir exprimer quant à l'authenticité du microbe décrit comme agent causal de la coqueluche. Nous ne reviendrons pas sur les arguments cités dans notre mémoire antérieur; bornons-nous à ajouter que le pouvoir sensibilisateur du sérum d'enfants convalescents de coqueluche s'est constamment manifesté, dans tous les cas soumis à l'épreuve, avec une remarquable énergie.

Le milieu de culture dont nous avons indiqué la préparation (mélange de sang de lapin et de gélose contenant un peu d'extrait glycériné de pommes de terre) nous paraît encore le mieux approprié[2] à l'isolement du microbe. Mais pour cette opération, le fait le plus important à connaître, c'est que le microbe de la coqueluche se développe, au moins dans la première culture, avec une certaine lenteur; les colonies exigent près de deux jours à l'étuve pour apparaître ; aussi peuvent-elles rester très petites si le milieu n'est pas soigneusement préparé, ou bien s'il se dessèche, ou s'il se développe dans le tube des colonies assez nombreuses de microbes banaux qui s'accroissent rapidement et épuisent tout autour d'elles les principes nutritifs. En l'absence de ces circonstances défavorables, on peut, même dans la première culture, obtenir des colonies qui, si elles ne sont pas trop rapprochées, deviennent très prospères à l'étuve vers le troi-

1. Ces *Annales*, septembre 1906.

2. Une recommandation qui a son intérêt pour la réussite des cultures est la suivante : Lorsque, pour préparer le milieu de culture, on ajoute le sang défibriné au culot de gélose fondue, il convient d'agiter le mélange très soigneusement. En effet, le sang possède une densité notablement supérieure à celle de la gélose ; si le mélange n'est pas bien intime, la partie supérieure peut être constituée de gélose mal imprégnée de sang, et former ainsi, lors de l'inclinaison ultérieure du tube qu'on laisse se refroidir, une surface médiocrement nutritive.

sième jour, et se distinguent en ce qu'elles sont blanches, saillantes, à bords très nettement circonscrits.

Certaines expectorations, particulièrement favorables, convenablement diluées et ensemencées sur le milieu nutritif, nous ont ainsi fourni des cultures presque pures, renfermant par exemple 100 ou 200 fois plus de colonies coquelucheuses que de colonies de microbes étrangers.

Nous avons, après nombre d'auteurs, signalé la fréquence dans l'expectoration coquelucheuse de microbes semblables à celui que Pfeiffer a décrit comme provoquant l'influenza[1], et mentionné ce fait que la présence de ces microbes constitue très souvent un sérieux obstacle à l'isolement du véritable parasite de la coqueluche. En effet, ils forment des colonies généralement très nombreuses, à développement rapide. Ces microbes ne s'agglutinent nullement sous l'influence du sérum de cheval immunisé contre le microbe coquelucheux, qui agglutine très énergiquement ce dernier; l'emploi de ce sérum permet une différenciation aisée et infaillible. Au microscope, ils sont souvent assez difficiles à distinguer du microbe coquelucheux lui-même[2]. Mais il suffit de quelques cultures successives sur le milieu du sang pour distinguer sûrement les deux microorganismes. Lorsqu'on ensemence en strie assez étroite le microbe coquelucheux sur la surface gélose-sang, on

1. En réalité, au lieu de dire semblables, il nous paraît qu'on devrait plutôt dire identiques. En effet, nous avons cultivé parallèlement, pendant un temps assez long, les microbes de cette espèce provenant de cas de coqueluche, et le microbe typique de l'influenza, mis obligeamment à notre disposition par M. le Dr Cohen, qui lui-même l'avait obtenu du laboratoire de M. Pfeiffer. Or ces cultures comparatives ne nous ont révélé aucune différence perceptible entre les microbes considérés.

2. C'est vrai surtout pour les premières cultures obtenues. Toutefois, certains signes sont utiles à connaître. Quand on les délaie dans l'eau, en vue d'obtenir une préparation, les microbes-influenza donnent une émulsion ayant tendance à une légère agglutination spontanée, de sorte qu'en séchant sur la lame ils se groupent souvent en petits bouquets (voir par exemple la figure 1 planche IX de Jochmann et Krause, *Zeitschrift für Hygiene*, 1901); dans les préparations de coqueluche, les microbes restent mieux disséminés. Au bout de quelques cultures sur notre milieu (parfois même plus tôt), le microbe-influenza revêt souvent des formes grandes (parfois gonflées et contournées); la taille moyenne s'accroissant ainsi dépasse alors fréquemment celle de la coqueluche. Les bleus phéniqués colorent l'influenza d'une manière visiblement plus intense que la coqueluche. Rappelons que le repiquage sur gélose-ascite distingue bien les deux microbes; la coqueluche y forme (assez lentement) une traînée blanche épaisse; la culture du microbe-influenza, sans y être à vrai dire tout à fait nulle, reste beaucoup plus mince.

voit la couche microbienne s'épaissir et faire ainsi, au bout de 2 ou 3 jours, une assez forte saillie. Mais si elle gagne beaucoup en épaisseur, elle ne progresse guère en largeur, de telle sorte que les bords en sont fortement inclinés, presque à pic. Ensemencé de la même manière, le microbe de l'influenza donne une couche très notablement moins épaisse, qui s'élargit en formant des bords souvent festonnés, doucement inclinés, luisants et humides. D'autre part, la culture coquelucheuse est plus blanche, ne noircit jamais le milieu sanguin sous-jacent, tandis que l'influenza[1] modifie fréquemment le sang en lui donnant une teinte sombre. Lorsqu'on regarde par transparence la culture de coqueluche, on constate que la traînée de microbes apparaît comme une ligne plus claire que les parties contiguës du milieu nutritif qui n'ont pas été touchées par l'ensemencement. Cet éclaircissement du milieu tient à ce que les microbes ont hémolysé les globules sous-jacents et diminué ainsi l'opacité du substratum nutritif.

Nous avons insisté sur ce fait que les formes anormales, très fréquentes chez le microbe de l'influenza (qui souvent produit des bâtonnets ou filaments de grande taille, ayant tendance au gonflement, à l'irrégularité d'aspect et à la faible colorabilité) sont rares chez le microbe de la coqueluche, qui garde avec constance son aspect de petit coccobacille dont les dimensions toutefois, surtout dans les cultures un peu âgées, peuvent être très réduites. Il s'agit ici bien entendu des cultures sur le milieu solide; les cultures en milieu liquide, dont nous allons dire quelques mots, présentent un pléomorphisme plus accusé; les dimensions sont plus variables, la colorabilité plus inégale, souvent plus forte, la forme moins ovoïde.

Les cultures liquides réussissent facilement, à condition que l'on tienne compte des exigences remarquables que manifeste le microbe de la coqueluche au point de vue du contact avec l'atmosphère. Ce microorganisme ne prospère en effet que dans

1. Les microbes dont il s'agit (identiques où très semblables à l'influenza) proviennent de cas de coqueluche, et concordent absolument, par tous leurs caractères, avec les microbes décrits par plusieurs de nos prédécesseurs, notamment Jochmann et Krause. Rappelons que pendant longtemps, au cours de nos recherches, notre attention (comme celle d'autres savants) a été vivement attirée vers ces microbes, que l'expectoration coquelucheuse fournissait presque constamment.

de très bonnes conditions d'aérobiose. Si l'on ensemence un tube à réactif contenant un liquide nutritif approprié s'élevant à quelques centimètres de hauteur, et si on le maintient à l'étuve en position verticale, le développement microbien ne se fait qu'avec lenteur et péniblement. Mais si on le couche en position presque horizontale, un trouble intense s'observe bientôt dans la partie du tube où le liquide est étalé en couche la plus mince. Aussi faut-il faire les cultures liquides en vase à fond large et plat, et y verser la quantité de liquide voulue pour que le niveau ne s'élève pas à plus d'un centimètre. On constitue un excellent milieu en mélangeant du bouillon peptonisé à 1 0/0, glycériné à 1 0/0, avec partie égale de sérum de cheval (de préférence chauffé au préalable 3/4 d'heure à 57°). Dans ces conditions, le microbe pousse sans guère troubler le liquide : au bout de 4 à 5 jours (le développement est assez lent) le fond du vase est tapissé d'un dépôt blanchâtre un peu visqueux et assez épais. Le liquide se trouble davantage et le dépôt est moins cohérent lorsqu'au lieu de sérum de cheval (qui manifeste sur le microbe un certain pouvoir agglutinant) on emploie du sérum de lapin.

Lorsque au lieu d'employer, pour constituer le milieu de culture, du sérum de cheval normal (chauffé à 57°) on fait intervenir du sérum de cheval (également chauffé à 57°) immunisé contre le microbe, le développement se fait encore très bien. Mais les microbes s'agglutinent davantage et revêtent une morphologie plus anormale ; ils poussent en streptobacilles ou même peuvent ressembler à des streptocoques en longues chaînettes, leur aspect est donc tout à fait aberrant et ne rappelle en rien celui si régulier qu'affecte le microbe sur le milieu solide.

On peut obtenir, par immunisation du cheval, un sérum extrêmement agglutinant[1]. Si l'on émulsionne dans 2 à 3 c. c. de solution physiologique la couche microbienne développée au bout de 2 jours sur un tube de gélose-sang de dimension moyenne, on obtient (si l'on a soin de délayer les microbes d'abord dans très peu de solution, afin de les dissocier conve-

1. Le cheval a reçu, en une quinzaine d'injections successives pratiquées, la plupart sous la peau, quelques-unes dans les veines, une quantité totale d'environ 2 litres et demi de culture liquide bien riche (bouillon glycériné et sérum de cheval neuf).

nablement) une suspension bien trouble, d'aspect très homogène, presque colloïdal. Or cette émulsion s'agglutine sous l'influence de traces de sérum actif; par exemple, on observe encore le phénomène, si l'on n'ajoute que 1/5000 de c. c. de sérum à 1 c. c. d'émulsion. Un excès trop considérable d'agglutinine nuit à l'intensité du phénomène; à cet égard, le microbe coquelucheux pourrait servir d'exemple pour l'étude du pouvoir empêchant, déjà signalé dans d'autres cas par divers observateurs, qu'exercent les doses trop fortes des immunsérums.

Les différentes souches de microbes coquelucheux qu'on peut se procurer aux dépens d'expectorations d'enfants atteints de la maladie ne sont pas également agglutinables. Ainsi, le sérum de notre cheval agglutine moins énergiquement le microbe qui a été employé à son immunisation, qu'un autre échantillon provenant d'un cas différent de coqueluche.

Nous avions espéré pouvoir pratiquer le sérodiagnostic de la coqueluche en recourant à la méthode si simple et si pratique de l'agglutination. Malheureusement le sérum des enfants atteints ou convalescents de coqueluche se montre très inconstant au point de vue de cette propriété. Elle existe souvent d'une manière manifeste, sans être pourtant d'une intensité bien remarquable; parfois même elle peut manquer presque totalement. On se trouve alors en présence de sérums qui, sans être nettement agglutinants, sont très fortement sensibilisateurs. Comme nous l'avons dit, la méthode de la fixation de l'alexine donne toujours des résultats positifs très accentués. Il y a donc dissociation des deux propriétés. Rappelons à ce propos que le sérum du convalescent de fièvre typhoïde avec lequel nous avons pour la première fois pratiqué l'essai de la fixation de l'alexine (1901) s'est montré fortement sensibilisateur sans être agglutinant, et ce fait a été assez souvent observé dans la suite. Au surplus, il y a longtemps que divers observateurs ont noté le manque de parallélisme nécessaire entre l'agglutination et le pouvoir bactéricide.

Nous avons signalé les accidents très visibles (irritation excessive, opacification de la cornée, etc.) qui surviennent lorsqu'on injecte dans la chambre antérieure de l'œil, chez le lapin, une trace d'expectoration contenant le microbe à l'état de pureté, ou bien encore un peu de culture sur milieu solide du

virus coquelucheux. On peut observer aussi des phénomènes remarquables en injectant le microbe dans le péritoine du cobaye[1]. A vrai dire, il convient d'employer à cet effet non des cultures liquides (qui sont très peu actives) mais une émulsion dans la solution physiologique de culture solide sur gélose-sang, âgée de 2 — 3 jours. — Un poids faible de microbes (il suffit de 1 1/2 à 2 milligrammes, les microbes étant pesés à l'état humide) provoque la mort, le lendemain ou le surlendemain de l'injection. Chose remarquable, il ne s'agit pas d'infection, les microbes ne se reproduisant pour ainsi dire pas dans le péritoine ; à l'autopsie, c'est à peine si on en découvre quelques-uns dans le liquide d'exsudat; parfois même tous ont été englobés par les phagocytes qui ont afflué en grand nombre. Mais on constate des phénomènes d'intoxication très accentués se traduisant par la production de pétéchies mouchetant de taches rouges les parois de la cavité, par une congestion des organes abdominaux, par de vastes épanchements (souvent teintés de rouge) de la cavité pleurale, parfois aussi de la cavité péricardique, par une congestion excessive des vaisseaux cardiaques. On constate aussi de la dégénérescence graisseuse du foie. Avant la mort, le symptôme le plus apparent que l'animal manifeste consiste en une très forte dyspnée, allant jusqu'au tirage, d'apparition assez précoce et qu'explique notamment l'exsudation pleurale. L'injection sous-cutanée donne de l'œdème.

Les émulsions de cultures solides dans la solution physiologique, tuées par le toluol ou le chauffage à 56° pendant une demi-heure, et injectées dans le péritoine des cobayes, amènent aussi la mort, en produisant les phénomènes d'intoxication, notamment l'intense épanchement pleural; cependant elles ne donnent guère lieu à des pétéchies. D'autre part, il en faut des doses plus fortes que lorsqu'il s'agit de microbes vivants. Le sérum de cheval immunisé, qui est si énergiquement agglutinant, ne possède qu'une vertu antitoxique médiocre; il faut en ajouter des doses assez fortes à l'émulsion microbienne pour que celle-ci puisse être injectée dans le péritoine sans amener la mort. Il convient de dire que nous ne possédons qu'un seul cheval immunisé, et que par conséquent nous devons garder une

1. L'injection dans le péritoine du lapin produit, à dose un peu plus forte, des effets identiques.

certaine réserve dans l'exposé des propriétés de l'immunsérum, l'efficacité éventuelle de celui-ci pouvant être variable suivant l'animal qui l'a fourni. — Néanmoins, il est fort probable que le sérum de chevaux immunisés contre le microbe de la coqueluche se range dans la même catégorie que le sérum antityphique et d'autres encore, lesquels, tout en manifestant d'une manière très prononcée certaines propriétés, telles que le pouvoir agglutinant, ne sont pas suffisamment antitoxiques. On devra évidemment tenter d'exalter cette dernière propriété; en effet, des essais assez nombreux pratiqués sur des enfants coquelucheux, avec le sérum dont il a été question, ont donné des résultats qui, parfois très perceptibles, n'étaient pas en général suffisamment accentués.

LE MICROBE DE LA COQUELUCHE

Remarques sur le travail de MM. J. Bordet et O. Gengou paru dans les *Annales de l'Institut Pasteur* (20e vol., 1906, fasc. 9, pages 731-741), avec la pl. XVIII.

PAR LE Dr BEYHER, DE BERLIN.

(Travail de la Clinique et Policlinique infantiles de la Charité, de Berlin.)

Dans ces *Annales*, Bordet et Gengou publièrent récemment les résultats de recherches ayant pour but de déterminer l'agent causal de la coqueluche. Après de longues observations (poursuivies pendant 6 ans environ), ils auraient découvert, disent-ils, le microbe spécifique de cette affection. De prime abord, ils repoussent la possibilité d'une identité de leur microbe avec l'un ou l'autre agent pathogène décrit précédemment. Ils attribuent l'insuccès des auteurs qui les ont précédés dans cette étude, à l'ignorance de certaines circonstances qui facilitent considérablement la recherche du microbe en question au milieu des germes qui peuplent les produits d'expectoration de la coqueluche.

Parmi ces circonstances favorables, l'une des plus importantes, d'après Bordet et Gengou, serait l'examen du produit d'expectoration, dès le début de la maladie ; car c'est à ce stade que l'on aurait le plus de chance de trouver le microbe inconnu en quantité suffisamment grande et, de plus, relativement peu mélangé avec d'autres germes banaux. Il faudrait, de plus, être certain que le produit examiné provient de la profondeur des bronches, de la région où siège très vraisemblablement l'agent microbien. Particulièrement précieux pour cette étude seraient les cas de coqueluche chez les tout jeunes enfants qui n'ont pas encore souffert d'affections des voies respiratoires supérieures et par suite possèdent peu de germes autres que les éléments spécifiques. C'est pour cette dernière raison qu'il serait avantageux de faire les observations sur des enfants traités en dehors de l'hôpital.

Dans quelques cas favorables, Bordet et Gengou auraient trouvé leur microbe de la coqueluche dans les crachats, en grande abondance et de plus presque à l'état pur, mais au stade primitif de l'affection seulement ; car dans la suite, malgré le grand nombre et l'intensité des quintes de toux, il devint de

plus en plus rare et disséminé au milieu d'autres germes de plus en plus nombreux. Au déclin de la maladie, il ne serait plus possible d'attribuer avec sûreté une influence étiologique, au microbe supposé spécifique.

Parmi ces germes qui peuplent les produits expectorés au stade plus avancé, on rencontrerait souvent une bactérie dont la ressemblance avec celle de la coqueluche amènerait aisément une confusion. C'est un bacille ressemblant beaucoup à celui de l'influenza de Pfeiffer, que Jochmann et Krause ont en effet considéré comme l'agent causal de la coqueluche. Il existerait cependant entre ces deux bacilles certains caractères distinctifs.

Bordet et Gengou décrivent comme suit leur microbe : « une petite bactérie ayant la forme ovoïde, parfois un peu plus allongée, mais en général assez constante d'aspect, colorée en bleu (bleu phéniqué de Kühne) très pâle, le contour et surtout les extrémités se teignant toutefois avec plus d'intensité que le centre, disséminée sans ordre entre les cellules (lambeau recueilli lors de la première crise de toux caractéristique), quelquefois phagocytée...

« La grande majorité des microbes étaient isolés, quelques-uns placés deux par deux, bout à bout. Le Gram était négatif. La pullulation était d'une telle abondance et d'une pureté si parfaite qu'on ne pouvait se refuser à admettre une relation de causalité directe (chez cet enfant dont les bronches étaient atteintes pour la première fois) entre cette infection et l'apparition de la coqueluche. Mais le microbe se montra rebelle à toutes les tentatives que l'on fit pour le cultiver. »

Leurs essais de culture en milieux ordinaires et sur hémoglobine ont échoué. Mais avec un milieu nutritif spécial préparé par eux (v. remarque p. 734) ils obtiennent un résultat plus favorable : deux jours après l'ensemencement un examen très attentif leur fit découvrir quelques colonies en nombre très restreint et si petites qu'elles étaient à peine visibles ; une observation très attentive était absolument nécessaire pour les reconnaître à ce moment, mais ultérieurement elles continuèrent à se développer et devinrent de plus en plus évidentes.

Les deux auteurs s'étendent ensuite longuement sur les différences morphologiques (leur bacille est plus grand que le bacille de l'influenza) et les caractères distinctifs des cultures

qui permettent de reconnaître leur bacille de la coqueluche de celui de l'influenza. J'aurai l'occasion de revenir en détail sur cette question, tout à l'heure.

Ils exposent finalement dans leur travail des expériences faites sur des animaux et des recherches de sérologie, observations très intéressantes mais qui ne doivent pas entrer en considération ici.

Si, à certain point de vue, je me réjouis de ces communications de Bordet et Gengou, je ne puis cependant leur dissimuler qu'une notable partie de leurs observations ne sont plus absolument neuves. Je ne peux non plus leur épargner le reproche d'avoir incomplètement étudié la littérature de la question. Sinon, ils n'auraient certainement pas ignoré qu'à différentes reprises dans plusieurs publications [1], dont ils ne font pas mention, j'ai attiré l'attention sur un microbe que je considère comme agent spécifique de la coqueluche avec beaucoup de vraisemblance ; ils auraient pu reconnaître ainsi que ce bacille, décrit par moi, est absolument identique au leur. Sans aucun doute possible, cette identité doit être admise.

Je désire simplement attirer ici l'attention sur les points les plus importants ; pour les détails, je renvoie le lecteur aux travaux ci-dessus désignés.

Déjà, dans mon premier travail (1903), j'ai fait remarquer que le germe, que je considérais comme l'agent probablement pathogène de la coqueluche, présentait une certaine ressemblance avec le bacille de Pfeiffer (les deux premières figures accompagnant ce travail sont une preuve à l'appui de cette opinion), mais que certains caractères absolument précis portant d'une part sur la grandeur des bacilles, d'autre part sur l'aspect de leurs cultures permettaient de les distinguer l'un de l'autre.

En ce qui concerne la première de ces différences, je me suis exprimé ainsi [2] (1, p. 610) :

1. Reyher, Zur Aetiologie und Pathogenese des Keuchhustens. *Jarhbuch f. Kinderheilkunde* 1903. 58. Bd. S. 605-632.

2. Reyher, Ein weiterer Beitrag zur Bakteriologie des Keuchhustens. *Charité-Annalen* 29. Jahrgang, 1905.

Reyher, *Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten*. Vortrag, gehalten auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Meran. 1906.

Reyher, Zur Bakteriologie des Keuchhustens. Vortrag, gehalten in der Gesellschaft der Charité-Ärzte in Berlin 1906. *Berliner Klin. Woch*. 1906, n° 36.

« Die Polbakterien sind deutlich grösser als die Influenza-bazillen. »

Quant à l'autre point, les essais de culture, et particulièrement la difficulté de cultiver le soi-disant bacille de la coqueluche, il est ainsi traité dans ce même travail (p. 609) :

« Dieses spärliche Aufgehn der Polbakterien fiel namentlich in einigen Fällen auf, in denen die Stäbchen ausserordentlich zahlreich im Sputumausstrich nachzuweisen waren... Auf jeden Fall ersieht man zur Genüge aus den bisherigen Kulturversuchen, wie schwer es ist, dieses fragliche Polbakterium zu kultivieren. »

Un second travail a eu spécialement pour objet : la présence de mes bactéries dans des coupes du larynx et particulièrement dans les cellules de l'épithélium plat de la région interarythénoïdienne.

Dans deux communications ultérieures, je me suis attaché à expliquer, en m'appuyant sur de nombreux micro-photogrammes, la diversité des opinions des auteurs. Cette diversité peut aisément se comprendre par la présence simultanée dans l'expectoration des coquelucheux des plus grandes bactéries colorées aux deux pôles, et des petits bacilles semblables à ceux de l'influenza. J'ai toujours soutenu dès le début, contre Jochmann notamment, que seul le premier de ces bacilles aurait une importance étiologique dans la coqueluche avec beaucoup de vraisemblance.

A cette occasion, j'ai insisté à nouveau sur l'extraordinaire difficulté de cultiver mes Polbactéries (Kultur ausserordentlich schwierig) ; les milieux nutritifs que j'utilisai me permirent d'obtenir seulement quelques rares et très petites colonies (nur vereinzelte und sehr winzige Kolonien).

Le maximum de longueur d'une de ces colonies ne dépassait pas 1/12 de millimètre et la plus grande largeur était d'environ 1/26 de millimètre. Cette extrême petitesse explique bien que les colonies aient pu passer inaperçues (Die enorme Kleinheit dieser Kolonien involviert die Möglichkeit, dass sie leicht ubersehen werden können).

Comme Bordet et Gengou, mais avant eux, dans ces mêmes travaux que je viens de rappeler, j'ai signalé les principales différences entre le bacille semblable à celui de l'influenza qui

se trouve aussi dans les produits d'expectoration à la période convulsive de la maladie et le microbe supposé de la coqueluche.

J'ai exprimé ainsi les caractères morphologiques distinctifs de mon bacille :

« Dass er durchweg deutlich grösser ist alsder « Influenza bazillus », eine mehr gedrungene Form mit abgerundeten Enden darbietet und, sich auch mehr durch regelmässige Formen der einzelnen Individuen von den Influenzabazillen unterscheidet welche eine mehr polymorphe schlankere Gestalt mit oft zugespitzten Enden besassen. »

Au sujet des cultures ces bacilles de Pfeiffer se développent particulièrement bien sur l'agar arrosé de sang, tandis que le bacille de la coqueluche est très difficile à cultiver sur les milieux habituels et même sur l'agar arrosé de sang.

Il me reste à dire encore que Bordet et Gengou ne furent pas les premiers à examiner les produits d'expectoration au début de la coqueluche. Plusieurs fois, dans mes publications, j'ai comparé des préparations faites aux deux stades de l'affection : au stade catarrhal, les bactéries trouvées par moi sont généralement plus disséminées et en liberté, tandis qu'on les trouve plutôt dans les cellules plates de l'épithélium au stade convulsif.

Ceci prouve à l'évidence que j'ai examiné des crachats de coquelucheux dès le commencement de la maladie.

Enfin, cette remarque des deux auteurs qu'à la dernière période de la maladie le microbe en question ne peut être reconnu comme agent causal, je l'avais déjà exprimée dans ma première publication :

« Einige Mal musste ich bei der mikroskopischen Besichtigung von Sputumausstrich Präparaten von schweren Keuchhustenfällen längere Zeit vergeblich nach einzelnen Polbakterien suchen, bis ich plötzlich auf eine Stelle stiess, an der eine grössere Anzahl von mit den fraglichen Stäbchen vollgepfropften Pflattenzellen sich vorfand. »

J'ai donné également une explication de cette particularité.

De cet exposé il apparaît, en toute évidence, que mes recherches bactériologiques concordent absolument avec celles de Bordet et Gengou, abstraction faite de leurs recherches

sérologiques. A l'exception de ces dernières qui restent l'apanage de ces deux auteurs, je réclame donc la priorité d'avoir expliqué les résultats décrits.

Tout ce qui précède sera mieux mis en lumière par l'examen des microphotogrammes ci-joints, microphotogrammes qui ont été montrés déjà en partie au congrès de Meran en 1905 et en partie à la Société des médecins de la Charité à Berlin, au mois de mai 1906.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. Préparation de l'exsudat de la coqueluche (stade convulsif) : une cellule plate de l'épithelium remplie du microbe coquelucheux. Grossissement 1 : 1.000.

Fig. 2. Préparation de l'expectoration de l'influenza, même grossissement (1 : 1.000). On voit que les bacilles de l'Influenza sont plus petits que les bacilles supposés de la coqueluche.

Fig. 3. Préparation de l'exsudat de la coqueluche (stade catarrhal) : les microbes coquelucheux végètent presque à l'état pur ; ils sont plus disséminés et en liberté. Grossissement 1 : 800.

Fig. 4. Préparation de l'exsudat de la coqueluche (stade convulsif) : une cellule plate de l'épithelium remplie de microbes coquelucheux. A côté de cette cellule, au milieu de la préparation quelques bacilles plus petits, ressemblant aux bacilles de l'influenza. Grossissement 1 : 800.

Fig. 5. Préparation de l'expectoration de la coqueluche (stade convulsif) d'un cas où les quintes de toux étaient très graves : les crachats se signalent par beaucoup de cellules plates de l'épithélium. Faible grossissement.

Fig. 6. Préparation de l'expectoration de l'influenza.

Fig. 7. Préparation de l'expectoration de bronchite simple. Même grossissement que dans les figures 5 et 6. Les cellules manquent ou du moins elles sont très rares.

Fig. 8. Le microbe coquelucheux en culture de 24 heures sur sérum. Grossissement 1 : 1.000. Les bacilles sont plus grands que les bacilles de l'influenza, et de forme plus régulièrement ovoïdale.

Fig. 9. Préparation d'une colonie du microbe coquelucheux (sur sérum). Grossissement 1 : 800. La colonie est très petite, presque invisible.

Fig. 10. Préparation d'une coupe du larynx, de la région interarythénoïdienne : beaucoup de microbes coquelucheux dans les cellules plates de l'épithélium de cette région.

LE MICROBE DE LA COQUELUCHE

Réponse à l'article précédent de M. Reyher.

Par les Drs J. BORDET et O. GENGOU.

Il eût été bien désirable, non pas pour nous, mais pour M. Reyher, que la réclamation de priorité qui précède n'eût point paru. En effet, la publication de cette note (on s'en convaincra en la comparant à notre premier mémoire sur la coqueluche) n'aura d'autre conséquence que d'exposer M. Reyher au jugement du lecteur pour ce qui concerne ses procédés de discussion, et d'attirer d'autre part l'attention sur l'imperfection de ses recherches scientifiques.

Mais M. Reyher a insisté pour que sa note vît le jour, et c'est pourquoi nous sommes forcés, à notre grand regret, de divulguer les incidents antérieurs à cette publication. Dès que nous apprîmes que M. Reyher prétendait avoir isolé avant nous un microbe identique au nôtre, nous pensâmes qu'en présence de cette affirmation, il convenait de cultiver parallèlement les deux microbes et de les comparer. Remarquons immédiatement que même s'il n'était point disposé à se fier à notre probité scientifique, M. Reyher ne courait aucun risque quelconque à nous envoyer sa culture, d'après lui identique à la nôtre. En nous faisant cet envoi, il ne nous donnait (en admettant bien entendu qu'il eût raison) absolument rien de nouveau, rien que nous ne possédions déjà : il se bornait à nous faire parvenir un microbe entièrement pareil, d'après ses propres dires, à celui que nous avions. Nous exprimâmes donc ces considérations à M. Reyher et lui demandâmes sa culture, lui promettant d'agir suivant l'une ou l'autre des deux alternatives suivantes : dans le cas où nous aurions constaté l'identité des deux microbes, nous l'aurions reconnue et déclarée ; dans le cas contraire, les deux cultures auraient été soumises, avec l'acquiescement

de M. Reyher, à l'examen de quelques bactériologistes éminents, choisis de commun accord, et qui se seraient prononcés. C'était, on le voit, très simple, et c'était loyal. Quelle que fût l'issue, la vérité était garantie; à supposer que la priorité de M. Reyher fût réelle, elle était infailliblement proclamée.

Mais M. Reyher déclina la proposition, refusant l'envoi de sa culture et formulant la volonté de publier sans retard. Nous en conclûmes, à bon droit, pensons-nous, que M. Reyher ne tenait guère à une enquête préalable. Il voulait réclamer. Il suffisait de lire la note de M. Reyher, note dans laquelle le parallèle entre les deux microbes porte sur quelques caractères judicieusement choisis, d'autres très essentiels étant soigneusement laissés dans l'ombre — sans doute parce qu'il aurait suffi de les citer pour ruiner la tentative d'identification, — note dans laquelle notre principal et indispensable argument en faveur de l'authenticité étiologique de notre microbe, l'activité spécifique du sérum d'enfants guéris, est jugé ne pas devoir entrer en ligne de compte dans la discussion, il suffisait, disons-nous, de parcourir la note de M. Reyher pour en apprécier l'allure tendancieuse. Le lecteur va d'ailleurs en juger.

Reprenons tout d'abord une citation que M. Reyher fait de son propre texte. Son bacille, dit-il, a ceci de commun avec le nôtre, qu'il se distingue du bacille de l'influenza par ses dimensions, sa forme trapue, ses bouts arrondis, « eine mehr gedrungene Form mit abgerundeten Enden... ,etc. ». — Or, une phrase presque pareille se retrouve en effet dans la dernière communication de M. Reyher [1]. La voici textuellement : « Während die auf allen Nährböden fortkommenden Bazillen eine mehr gleichmässige, gedrungene Form mit abgerundeten Enden darbieten, zeigen die vom Influenzabazillus nicht zu differenzierenden Stäbchen eine mehr polymorphe schlankere Gestalt mit oft zugespitzten Enden. » Mais il faut lire le reste de l'article. On s'aperçoit alors que le microbe de M. Reyher, qu'il considère maintenant comme identique au nôtre, était jugé alors par l'auteur comme étant identique au microbe de Czaplewski. Après un bref historique, on lit en effet (nous traduisons littéralement) : « Mes propres recherches

1. *Berliner Klin. Wochenschrift* 1906, n° XXXVI, page 1197.

bactériologiques m'ont conduit à ce résultat, que les deux types microbiens, celui de Czaplewski et celui de Jochmann, se rencontrent dans l'expectoration coquelucheuse, mais que la forme la plus grosse et la plus trapue (die grössere gedrungenere Form) s'y trouve constamment, tandis que le microbe analogue à l'influenza (celui de Jochmann) ne se décèle que dans environ 70 à 80 0/0 des cas ». Et quand M. Reyher ajoute ensuite que c'est la forme la plus grosse qui se rencontre dans les cellules épithéliales, c'est toujours du Polbaktérium de Czaplewski qu'il est question, et c'est encore ce microbe qui, comme nous venons de le rappeler, est comparé par M. Reyher (voir sa citation) au microbe (voisin de l'influenza) de Jochmann. Notons en outre que si, comme il le dit, son microbe pousse difficilement (colonies rares et petites), il pousse néanmoins sur tous les milieux. Le nôtre, nous l'avons dit, ne pousse pas sur les milieux usuels (gélose-gélatine), il lui faut des albuminoïdes non coagulés.

C'est précisément parce que le *Centralblatt für Bakteriologie* rapportait [1] que M. Reyher adoptait le microbe de Czaplewski, que nous ne l'avons pas cité. Citant M. Czaplewski, dont le microbe est sûrement différent du nôtre, nous jugions naturellement inutile de citer tous ceux qui se ralliaient à son avis. Il est vrai qu'actuellement, dans sa réclamation, M. Reyher ne fait plus du tout mention de M. Czaplewski.

M. Reyher l'a voulu, nous devons aller jusqu'au bout. — Il est certain que la description faite par plusieurs savants des formes qu'ils ont vues dans l'expectoration coquelucheuse rappelle parfois nettement celle de notre microbe [2]. Il est donc pos-

1. On lit au tome XXXV (1904), page 280, des *Referate* du *Centralblatt f. Bakt.* : Reyher Paul : Zur Aetiologie des Keuchhustens, « Verf. hat an der Berliner Kinderklinik 34 Fälle von Keuchhusten untersucht. Es gelang ihm in allen Fällen das von Czaplewski beschriebene Polbakterium nachzuweisen. »

Dans les mêmes *Referate* (t. XXXVII, 1905, page 551, Compte rendu de la réunion des médecins à Meran), il est encore signalé que le Polbakterium de Czaplewski-Reyher donne peu de colonies, mais pousse sur tous les milieux. Pouvions-nous supposer que ce bacille se métamorphoserait au point de devenir identique au nôtre?

2. Mais tant de coccobacilles se ressemblent! Quand notre microbe et le bacille semblable à l'influenza sont mélangés dans l'expectoration, il est quasi impossible d'identifier avec certitude chaque individu qu'on aperçoit. Dans les cultures sur gélose-sang la forme de notre microbe et celle du choléra des poules se ressemblent souvent beaucoup.

sible que le vrai bacille de la coqueluche ait été aperçu dans le produit morbide, par plusieurs bactériologistes. Nous-mêmes l'y avons vu six ans avant de l'obtenir en culture. Mais quand il s'agit d'affections des voies respiratoires, où tant de germes peuvent se rencontrer (le microbe spécifique pouvant même, comme dans la tuberculose, être souvent moins nombreux que les espèces banales,) la question n'est pas de voir tel ou tel élément dans le produit pathologique; ce qui importe, c'est de l'obtenir en culture afin d'étudier son rôle et sa signification, c'est d'isoler le véritable agent et de fournir en sa faveur des arguments probants.

Ce qu'il faut comparer, ce sont donc les cultures. Or, de son microbe, M. Reyher n'a jamais pu obtenir (même sur le Blutagar) que des colonies rares et extrêmement petites (moins de 1/10 de millimètre). Le nôtre au contraire, s'il poussait difficilement dans la première culture (en raison de la lenteur de son développement, de la concurrence des germes banaux), a donné sans retard (dès qu'il a été retiré à l'état pur, c'est-à-dire 2 ou 3 jours après l'ensemencement de l'expectoration), une traînée blanche, luxuriante. Repiqué ensuite non seulement sur notre milieu, qui était nouveau, mais même sur un milieu connu et utilisé de tout le monde, la gélose-ascite, il y donna « une couche blanche, d'aspect gras et humide, devenant, après 2 à 3 jours, à peu près aussi épaisse que l'est une culture typhique sur gélose ordinaire [1] ». Il se développe fort bien aussi dans des milieux liquides (bouillon-sérum) faciles à préparer. Et cette discordance saisissante des caractères de culture n'empêche pas M. Reyher d'affirmer l'identité des deux microbes !

Même incohérence au sujet du parallèle avec le bacille semblable à l'influenza. Dès qu'on opère avec des cultures purifiées, notre microbe végète plus abondamment que le microbe-influenza; le contraste est même saisissant. D'après M. Reyher lui-même, c'est le contraire pour son bacille qui est toujours très chétif même sur l'agar-sang. Et M. Reyher écrit néanmoins qu'il a, avant nous, signalé les principales différences entre le bacille de la coqueluche et l'influenza. C'est vrai, mais les diffé-

1. Voilà un caractère essentiel que M. Reyher laisse dans l'ombre.

rences qu'il signale sont précisément inverses de celles que nous avons consignées [1].

Nous avons dit que notre microbe se trouve disséminé (à part l'englobement possible par les phagocytes) dans l'expectoration, à l'état libre. M. Reyher constate que le sien se trouve souvent dans les cellules épithéliales; jamais nous n'avons dit ni vu que ce fût le cas pour le nôtre. Encore une analogie.

On ne trouve, dans l'article de M. Reyher, rien qui concerne l'expérimentation sur les animaux.

Un mot encore àpropos de nos recherches sérologiques qui, d'après M. Reyher, ne doivent pas entrer en considération ici. Sans elles, nous n'aurions rien publié. Dans l'état actuel des moyens d'investigation, elles étaient obligatoires autant que réalisables. Nous n'aurions pas voulu, en présentant un microbe (la coqueluche peut en fournir beaucoup d'espèces), nous borner à dire, comme M. Reyher, sans autre effort, qu'il est l'agent « vraisemblable » ou « très vraisemblable » de la maladie. Comme l'ont spontanément signalé MM. Metchnikoff et Roux, nous avons vu et coloré, bien avant Schaudinn, le spirochète de la syphilis, mais nos documents trop restreints ne nous ayant pas démontré son rôle avec la certitude voulue, l'observation resta inédite. Notre éminent et regretté collègue allemand sut réunir des présomptions plus nombreuses et plus fortes, — tant mieux. Pour la coqueluche, nous croyons avoir des preuves, M. Reyher n'en a jamais eu. Nous nous permettons de ne pas croire qu'un bactériologiste puisse négliger d'éprouver l'action du sérum d'enfants guéris sur le microbe qu'il isole, omettant ainsi d'appliquer à cet effet des méthodes connues depuis plusieurs années ; nous devons donc admettre que M. Reyher n'a eu que des résultats négatifs (une observation positive eût certes été signalée), que le sérum en cause est sans action sur son microbe et qu'en conséquence ce dernier est différent du nôtre.

Inutile de nous résumer. Notre attitude d'une part, les caractères des cultures en jeu, etc., de l'autre, apparaissent suffisamment. Que M. Reyher maintienne ses affirmations en disant que

1. Quant aux dimensions, comparées à celle de l'influenza, on sait que presque tous les microbes connus sont plus grands que ce dernier. Presque tous ont donc ce caractère commun. La supériorité de taille de notre microbe sur l'influenza est minime ; c'est encore un microbe très petit.

s'il n'a pu obtenir, comme nous, un développement du microbe en couche épaisse, c'est qu'il n'a pas su le faire pousser convenablement ; que s'il n'a pas signalé l'action du sérum de sujets guéris, c'est qu'il ignorait les méthodes ; que s'il n'a pas expérimenté sur les animaux, c'est qu'il n'y a pas pensé, etc... — c'est son droit. Mais nous estimons, en terminant cette longue discussion, que les colonnes de ces *Annales*, notre temps, et sûrement aussi celui de M. Reyher, auraient pu être plus utilement employés.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU SURRA D'INDO-CHINE

PAR H. SCHEIN

Inspecteur des Epizooties en Annam, chargé du service vétérinaire à l'Institut Pasteur de Nhatrang.

Travail de l'Institut Pasteur de Nhatrang.

Depuis que L.-F. Blanchard, en 1888, décrivit, sans le déterminer, le parasite qui va nous occuper, nombreux sont les observateurs qui ont étudié la maladie qu'il provoque. Mais, jusqu'aux derniers travaux de MM. Vassal, Laveran et Mesnil [1], régnait une certaine incertitude sur sa place dans la classification. Ces savants complètent, coordonnent les données antérieures, classent la maladie.

D'après eux, nous attribuons le nom de « Surra » à la trypanosomiase des mammifères de cette contrée, qui, en pratique, tue presque exclusivement les équidés.

Par cette désignation « Surra », nous n'entendons pas identifier la trypanosomiase d'Indo-Chine avec celle de l'Hindoustan ou de Maurice. Pour nous, « Surra » désigne un groupe de maladies voisines, dont le « Surra d'Indo-Chine » est un des composants.

I. — TRYPANOSOMIASE DU CHEVAL

Le Surra a été constaté d'une façon précise dans un certain nombre de provinces d'Indo-Chine, les plus diverses et les plus éloignées les unes des autres : Hatien, à l'extrême sud de la Cochinchine, Viétri, au nord de Hanoï, au Tonkin. Dans d'autres localités, des épizooties, dont la nature n'a pu être déterminée rigoureusement, à cause de l'éloignement, sont logiquement attribuables à cette affection. Tout entière, l'Indo-Chine doit être prise.

Nous avons pu étudier comparativement des trypanosomes ayant les origines suivantes : vallée de Nhatrang (épizooties de 1904 et de 1905), Hanoï (1905), province du Darlac (1906), Hué (1906). Les épizooties de Nhatrang et celles du Darlac ont été étudiées sur place. Nous avons pu suivre les symptômes

1. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XX, avril 1907.

et la marche de la maladie chez les chevaux frappés par la contagion naturelle.

Dans l'ensemble, nous n'avons pas trouvé de différence avec les symptômes trop souvent décrits, pour que nous les reprenions en détail. Au début, l'exercice provoque rapidement de l'essoufflement, l'animal devient mou et ne peut bientôt plus travailler. — Amaigrissement rapide, tristesse, et un peu de somnolence. — Peau sèche, chaude, poil piqué. — La respiration, précipitée, irrégulière, discordante ou soubresautante, entrecoupée, montre parfois le rythme de Cheynes-Stokes. — Pouls vite, petit. Rien à la percussion ni à l'auscultation du thorax. — Muqueuses blanchies, livides. — Température irrégulière, souvent presque normale, subissant par intervalles de fortes poussées. — Symptômes oculaires assez rares : conjonctivite et kératite. — Œdèmes inconstants, à siège variable aux parties déclives. — Parfois, véritable parésie du train postérieur, et mort après une dernière période d'hyperthermie. Les lésions trouvées à l'autopsie sont les plus vagues : anémie intense, hypertrophie de la rate, moelle osseuse embryonnaire retournant au type fœtal.

Pendant le cours de la maladie, le nombre des parasites de la circulation générale varie sans cesse : d'abord fort petit, ce nombre augmente graduellement, passe par un maximum ; à ce moment, l'organisme semble réagir pour se débarrasser des trypanosomes : la fièvre s'allume pendant deux, trois jours, et le nombre d'hématozoaires décroît considérablement, puis la température redevient presque normale.

Ces véritables « crises » sont au nombre de 3 ou 4 au cours de la maladie. Rarement des sujets — probablement en état de moindre résistance — succombent dès la première.

Pendant ces périodes critiques, l'urine est chargée d'albumine, alors que nous n'en avons pas constaté dans les intervalles.

Chaque crise épuise davantage le malade, il meurt après une dernière, ne présentant plus quelquefois que peu de parasites. Souvent même l'inoculation du sang des victimes aux animaux sensibles reste infructueuse : les trypanosomes disparaissent alors complètement.

MM. Brau, Saint-Sernin et Mutin-Boudet[1] ont divisé la maladie en deux formes : une forme « œdémateuse » grave, emportant l'animal en 30-45 jours, et une forme « sèche », plus lente, ne tuant qu'en deux mois, deux mois et demi.

Nous n'avons pu faire cette distinction. Au cours de la maladie, nous avons presque toujours noté des œdèmes, parfois fugaces, mais leur présence n'impliquait nullement une évolution plus rapide. Un des animaux observés (épizootie de Ban-Tour, au Darlac) a mis 4 mois 1/2 à succomber, c'est probablement la durée la plus longue constatée à ce jour et cet animal a présenté un très fort œdème ventral.

Suivant les épizooties, de grandes variations peuvent se constater dans la virulence des trypanosomes. Dans la province du Darlac, existaient deux foyers de maladie, éloignés l'un de l'autre de 65 kilomètres de sentiers peu praticables, et ne communiquant jamais, étant habités par des tribus Moïs différentes de langue et d'habitudes. C'étaient les foyers de Ban Don et de Ban Tour.

Le parasite du premier foyer, très virulent, tuait les animaux en 1 mois 1/2.

Dans le second, les animaux n'ont succombé qu'en 4 mois 1/2 et 3 mois. Le sang du cheval qui devait succomber en 4 mois 1/2 a été inoculé à un chien (dose, 2 c.c.) et à deux rats (1/2 c.c. chacun) 15 jours avant la mort du sujet, à un moment où les parasites étaient nombreux (5-6 par champ). 20 jours après l'inoculation, le chien n'avait pas présenté de parasites, mais, à ce moment, il s'est malencontreusement échappé et n'a pu être repris. Les 2 rats sont morts en 28 et 31 jours, sans que l'examen journalier de leur sang nous ait montré de parasite.

Les trypanosomes du foyer de Ban Don, rapportés au laboratoire sur des cobayes, ont tué le chien en 12-15-23 jours. Les rats succombaient en 9-10-15 jours.

Sur les préparations colorées au Giemsa, les parasites des deux foyers étaient morphologiquement indistinguables.

Nous avons adopté, pour les mensurations, les coordonnées proposées par Lingard[2] :

1. *Bull. Chambre d'Agric. de Cochinchine*, 9e année, 1906. — Voir *Bull. Inst. Pasteur*, t. IV, p. 674.
2. *Journal of tropical veterinary science*. Janv. 1906, p. 5 à 14.

a. Distance entre l'extrémité postérieure et le centrosome;
b. Distance entre le centrosome et le bord postérieur du noyau;
c. Distance entre les bords postérieur et antérieur du noyau;
d. Distance entre le bord antérieur du noyau et l'extrémité antérieure du corps.
e. Longueur de la partie libre du flagelle;
f. Largeur maxima du corps.

Les dimensions des parasites varient suivant leur âge: en effet, après une scission longitudinale, chacun des flagellés fils est moitié moins large que le parasite père; ils augmentent de largeur jusqu'à une nouvelle scission. En outre, au moment de la division, les centrosomes sont rapprochés du noyau pour s'en écarter peu à peu ensuite. Il est nécessaire de ne comparer, autant que possible, des parasites adultes, chez la même espèce d'animal.

Dans ces conditions, les parasites de toutes les origines indo-chinoises que nous avons pu comparer, n'offraient que des variations peu importantes, moindres que celles que l'on peut trouver entre deux parasites sur une même préparation.

Le tableau ci-après en donnera une bonne idée.

Animaux. / Dates.	Cobaye 6. Vir. N.T 17 oct.05	Cobaye S. 2. Virus Ng. Duoc	Cobaye 8 bis. Virus Ban Don	Chien. Virus Ban-Don. 19 décembre 06.			Chien de M. Merle Virus Hué.	Cob. 4 Virus Hanoï 31 oct.05	Cob. 2. Virus Hanoï. 9 août 05	Cobaye Virus Ban Don
a	2,4	2,0	1,1	3	2,[illegible]	1.6	2,8	3,2	2	2,1
b	5,8	6,4	5,8	7	6,0	5	8,0	5.6	6 2	5.7
c	3,0	2,5	2.3	3	2.5	1,5	3,2	2,4	2,4	3,2
d	9.5	9,2	7,5	8	7 3	6	6,4	8.1	7,3	8,6
e	7,4	8	10	10	9,7	5	8.8	9	8,8	9,5
f	2,7	3	2.4		2,5	1,5	2,5	3,2	3.2	3,0
Observations.			Les formes jeunes prédominent.	Maximum absolu.		Minimum absolu.	Formes jeunes nombreuses			

La virulence pour les animaux de laboratoire était à peu près semblable, mettant à part celles de Ban Tour, dont l'étude a été interrompue, et celle de Hué, dont nous n'avons eu que des préparations dues à l'obligeance de M. Bauche.

Tableau montrant les délais de mort (en jours) des animaux inoculés.

VIRUS	COBAYES	LAPINS	RATS	CHIEN
Nhatrang 1905.	93-57-27 36-17-13	12	9-11	28
Hanoï 1905	25-57 17-37	6 j. (Montrait des T.)	8-10-13	25
Ban-Don.................	40-25-17-19 17-12-6	22-11	9-10-13	11-14
Nguyen-Duoc............	19-15-46	22-10-6-23	7	22

L'animal de passage était le cobaye, dans tous les cas ci-dessus, sauf pour Nguyen Duoc, où nous nous sommes servi du lapin.

Il semble que le trypanosome acquière plus de virulence, par des passages répétés, pour l'animal choisi. Les chiffres ci-dessus étant donnés par ordre d'inoculations successives, semblent bien le prouver.

* * *

Jamais, au cours des différentes épizooties de Surra, nous n'avons pu trouver d'autres malades que des chevaux. Nous avons pourtant pu constater, en même, temps, deux cas spontanés de Surra chez le chien de race indigène. Mais c'était à Nhatrang même, et les animaux avaient pu pénétrer dans la salle d'autopsie et se repaître de cadavres d'animaux morts, probablement de lapins.

L'un d'eux, qui nous appartenait, a succombé 20 jours après

le début des accidents, dont nous avons immédiatement reconnu la nature. Un traitement au trypanroth et à l'arsenite de soude n'a pas eu d'effet appréciable. L'animal a présenté, sur la fin, de la conjonctivite et de la kératite, alors qu'aucun de nos nombreux chiens d'expérience n'a montré d'accidents oculaires.

L'autre chien, appartenant à un indigène, n'a pu être suivi de près ; il a présenté des parasites, et a succombé une vingtaine de jours après.

Nous incriminons les cadavres de lapins pour ces deux contaminations accidentelles. Comme tous les expérimentateurs nous avons constaté que le sang du cheval, après la mor naturelle de Surra, se montre assez rarement virulent, ainsi que celui du cobaye. Le sang d'un rat ayant succombé montre, le plus souvent, de très nombreux trypanosomes, à tous les stades de dégénérescence, et transmet infidèlement la maladie avec de longs retards d'incubation. Au contraire, le sang de lapins, pris dans les mêmes conditions, montre d'ordinaire des trypanosomes, peu nombreux, mais vivants, bien mobiles et communique le Surra dans les délais normaux.

II. — Trypanosomiase chez le boeuf.

Le 31 août 1906, en dehors de toute épizootie de Surra, deux bœufs mouraient chez un nommé Nguyen Duoc, au village de Phu-An, à 8 kilomètres de Nhatrang. C'est dans les maisons avoisinant celle de Nguyen Duoc que sévit l'épizootie de Surra de 1904.

Au moment de la mort de ces bœufs, il y avait eu plusieurs cas de charbon chez le cheval et chez le bœuf, aux environs immédiats de Nhatrang.

M. Bauche, inspecteur des épizooties, se rendit à Phu-An, pratiqua l'autopsie des animaux sans trouver de lésions nettes, et rapporta au laboratoire préparations et pipettes de sang.

L'autopsie ayant été tardive, on trouva des bactéries banales (septique-staphylocoque, bactéries ovoïdes); on ne rencontra pas de trypanosomes.

On inocula, avec le sang de chaque bœuf, deux cobayes et

un lapin. Dès le lendemain, les quatre cobayes moururent d'infection septique, les lapins survécurent. Mais, le 22 septembre (22 jours après l'inoculation) un des lapins mourut, présentant des trypanosomes ; l'autre lapin n'eut jamais rien.

Au moins l'un des deux bœufs de Nguyen Duoc était donc infecté de trypanosomiase. On fit avec ce premier lapin une série de passages et d'inoculations : la virulence était en tout comparable à celle des épizooties de Nhatrang 1904 et 1905. Les dimensions étaient aussi analogues. (Voir les tableaux ci-dessus.)

Il fallait savoir si les autres bovidés habitant les environs de cet ancien foyer hébergeaient des hématozoaires. Avec 2 c. c. de sang de chaque Ruminant habitant les étables situées dans un rayon d'environ 500 mètres autour de l'étable de Nguyen Duoc, nous inoculâmes deux rats. Ce fut en vain, nous n'avons pu mettre aucun parasite en évidence. Le cas du bœuf de Nguyen Duoc devait être isolé, le dernier d'une série de contaminations sans accidents visibles se poursuivant en silence chez les Ruminants depuis l'épizootie 1904.

III. — Trypanosomiase du buffle.

M. Vassal a montré que le buffle d'Indo-Chine, peu sensible à la trypanosomiase, présentait longtemps dans son sang les parasites inoculés. Le bufflon dont il relate l'histoire a porté des Trypanosomes pendant cinq mois, du 7 janvier au 24 juin 1905. Le 5 octobre, le sang de cet animal se montrait avirulent. C'est à ce moment que M. Vassal termine l'intéressante observation de ce sujet.

Le 26 mars 1906, nous inoculâmes 20 c. c. de son sang à un chien, qui resta indemne. Les parasites n'avaient pas reparu.

Le 11 septembre, le bufflon reçut 5 c. c. de sang, riche en Flagellés, venant d'un chien porteur de notre virus de Ban Don.

Les 18-19-20, l'animal eut une hyperthermie passagère, ce fut tout. Son poids, de 169 kilogs à la fin de l'expérience de M. Vassal, était de 191 au début de la nôtre : il a passé par un maximum de 198, et il est retombé à 197 le 2 janvier. L'appéti

a toujours été bon; l'examen direct du sang, fait tous les deux jours, n'a jamais montré de parasites. Mais, en revanche, ce sang s'est constamment montré infectant pour le rat du 19 septembre au 29 décembre; les rats inoculés à partir du 21 janvier 1907 n'ont plus été contaminés.

Un des rats inoculés le 29 décembre — rat B. 14 — est mort trois jours après, sans montrer de parasites, mais son congénère (B. 13) a présenté pour la première fois des Trypanosomes le 6 janvier (après *huit jours* d'incubation); on en trouvait un pour huit champs, puis le 7 même fréquence, plus rares le 10 (1 pour trente champ), augmentant le 12 (1 pour 15), nombreux le 14 (2 par champ), plus encore le 16 (4 par champ), ont diminué le 17 (2 par champs) et ont disparu le 19. — Après ce jour, on n'a plus revu de parasites. Il s'agissait bien de *T. Evansi*, préparations fraîches et colorées étaient univoques.

B. 13 n'a succombé que le 2 février (trente-cinq jours après l'inoculation). On n'a pas retrouvé de parasites sur le cadavre. Les rats, on le sait, supportent fort mal la captivité. Il n'est pas rare de voir des rats, non inoculés, succomber vingt jours après leur capture.

Le tableau suivant montrera que, dans l'ensemble, le trypanosome tuait le rat de moins en moins vite, au fur et à mesure qu'il vieillissait sur le bufflon.

Épreuve des rats par le sang du buffle.

Nos DES RATS	DATE D'INOCULATION	DATE DE MORT	DÉLAI	OBSERVATIONS
1	19 septembre.	25 septembre.	6 jours.	
2	»	25 septembre.	6 —	
B. 1	29 septembre.	2 octobre.	3 —	Mort accidentelle. (Pas vu T.).
B. 2	»	8 octobre.	9 —	
B. 3	6 octobre.	19 octobre.	13 —	
B. 4	»	20 octobre.	14 —	
B. 5	25 octobre.	13 novembre.	18 —	
B. 6	»	7 novembre.	12 —	
B. 7	13 novembre.	23 novembre.	10 —	
B. 8	»	23 novembre.	10 —	
B. 9	23 novembre.	7 décembre.	14 —	
B. 10	»	3 décembre.	10 —	
B. 11	12 décembre.	27 décembre.	15 —	
B. 12	»	26 décembre.	14 —	
B. 13	29 décembre.	**2 février**	**35** —	
B. 14	»	1er janvier.	3 —	Mort accidentelle.
B. 15	21 janvier.	4 février.	14 —	Jamais vu de T
B. 16	»	9 février.	19 —	— —
B. 17	9 février.	25 février.	16 —	— —
B. 18	»	26 février.	17 —	— —

Rapprochant ces faits de l'histoire des trypanosomes de Ban Tour, nous sommes naturellement conduit à penser, avec **M. Mesnil** [1], que les différences observées tiennent à la « généalogie » des trypanosomes, et à ne pas attribuer trop d'importance à la virulence des Trypanosomes pour leur classification.

Le buffle n'est pas immunisé par une première atteinte de Surra. Un parasite de virulence plus grande, ou d'origine

1. *Bull. Inst. Pasteur*, t. II, p. 917, et t. IV, p. 454, Analyses des travaux de A. Schilling et de Theiler, par F. Mesnil.

différente, peut encore le contaminer à nouveau et faire de lui, pour de longs mois, un redoutable réservoir de virus, ce qui augmente considérablement le danger qu'offre cet animal dans la transmission du Surra.

Notre ami, M. Bauche, vient de remarquer, dans l'épizootie de Hué, que les seuls chevaux atteints étaient les poulinières et les poulains qu'on laissait librement pâturer le jour, alors que leurs congénères, chevaux d'attelage, restant toute la journée à l'écurie ou n'en sortant que pour le travail, n'étaient pas atteints. Pourtant, en Indo-Chine, les écuries sont largement ouvertes, et les bêtes reproductrices partageaient, la nuit, le logement des animaux indemnes. Mais l'écurie des bestiaux était éloignée.

Cette constatation nous a frappé; nous avons retrouvé, dans nos notes, que dans l'épizootie de Surra qui a sévi dans les écuries de l'Institut (Suoi-Giao, en 1905), *aucun* des *huit* chevaux d'attelage, restant à l'écurie, n'a été atteint, alors que sur 87 chevaux allant pâturer, 18 avaient succombé (20 0/0). Là aussi, l'étable des buffles était éloignée.

Les pâturages ne sont ni très étendus ni très plantureux, en Indo-Chine; buffles, bœufs, chevaux, voisinent sans cesse. Les diptères sanguicoles, voletant des uns aux autres, peuvent aisément communiquer la maladie.

Au sujet de l'épizootie qui a sévi dans la province de Ninh-Binh (octobre 1905) notre distingué confrère, M. Bodin écrivait[1]:

« Les bœufs et les buffles de l'exploitation, en contact constant avec les chevaux, n'ont pas été éprouvés, et ont été piqués, sans aucun doute, par des mouches ou taons infectés, il semblerait que ces animaux se soient montrés réfractaires à la maladie... »

Ces lignes, écrites avant la publication du travail de M. Vassal, donnent, par antithèse, la clef de la contamination des chevaux.

Toujours, dans toutes les épizooties que nous avons vues ou qui ont été relatées, il y avait eu ce contact des équidés malades et des grands Ruminants domestiques. Ainsi que le pense Pease[2], pour l'Hindoustan, le buffle joue « un rôle

1. *Bulletin économique Indo-Chine*. Octobre 1904, p. 46.
2. *Journ. of. trop. vet. sc.*, 1906, p. 70-91-127-129.

important dans la propagation du Surra ». Tous les faits exposés nous permettent de généraliser et de dire que les grands Ruminants jouent un rôle considérable.

La prophylaxie du Surra nous en semble précisée et simplifiée.

IV. — Expériences diverses.

Albuminurie. — Les juments 14-16-21 de Suoi-Giao, atteintes, en 1905, de trypanosomiase spontanée, présentent de nombreux parasites. Leur urine, éprouvée par la chaleur et l'acide nitrique, contenait une forte proportion d'albumine, sans sucre ni pigments biliaires. Elles ont succombé après cette poussée.

La jument 28 a présenté quelques poussées de trypanosomiase. Le 17 décembre 1905, les trypanosomes sont rares (1 pour 5 champs). On ne trouve pas d'albumine dans l'urine. Le 20 décembre : examen du sang négatif; pas d'albumine.

Le 23 : trypanosomes nombreux (2 par champ) l'urine coagule par la chaleur et l'acide azotique. On ne trouve ni sucre ni pigments biliaires.

Le 25 décembre : le nombre des trypanosomes décroît : on ne trouve pas d'albumine.

Le 28 : la jument meurt à 5 heures du matin. Les parasites ont disparu. L'urine n'est plus albumineuse.

Cette albuminurie doit être en rapport avec les lésions de néphrite parenchymateuse subaiguë signalées par A. Massaglia[1]. Mais elle semble aussi liée avec les « crises » traversées par l'organisme, au moment des pullulations de l'hématozoaire.

Salive. — La jument 31 présente de nombreux trypanosomes le 16 novembre 1905. On lui injecte 0 gr. 05 de nitrate de pilocarpine. Cinq minutes après, on recueille un demi-verre de salive. Très sale, celle-ci est filtrée sur papier filtre très mince. Elle passe rapidement, encore trouble, mais débarrassée des plus gros débris végétaux qui l'encombraient.

On inocule deux cobayes, S. 1 et S. 2, avec 2 c. c. de ce filtrat.

Avec 1/4 de c. c. de sang, on inocule un cobaye témoin.

Le témoin présente des parasites six jours, et meurt vingt-trois jours après la contamination. S. 1 et S. 2 n'ont rien présenté, sauf de l'œdème aux points d'inoculation, dû aux impuretés du liquide.

S. 1, réinoculé le 11 décembre avec 1/2 c. c. de la jument 28 parasitée, laisse voir des parasites le 16 décembre (5 jours après l'inoculation) et meurt le 5 janvier (25 jours).

S. 2, inoculé le 20 octobre 1906, avec 3 gouttes du sang du lapin n° IV

1. *Bulletin, Inst. Pasteur*, IV, p. 668.

(virus bœuf Nguyen Duoc), présente des parasites le 1er novembre (après 11 jours d'incubation) et meurt le 4 décembre (en 46 jours).

La salive n'avait ni contaminé ni immunisé les cobayes S. 1 et S. 2.

Action de la chaleur et de la lumière solaire. — Ayant pu constater le peu de sensibilité des cobayes sains à l'action du soleil tropical, nous avons voulu voir l'action que pourraient avoir la lumière et la chaleur sur des animaux surrés.

Le 20 octobre, trois cobayes, C. 1 et C. 2, et C'. 1. reçoivent chacun 2 c. c. de sang d'un chien présentant à ce moment de nombreux parasites. Les animaux C furent mis dans une cage grillagée sur les quatre faces, recouverte d'un toit ne débordant pas, exposée au soleil devant un mur blanc. Les animaux recevaient les rayons directs de l'astre, de 6 heures du matin à 10 heures, et de 2 à 5 heures du soir.

Le cobaye C'. 1 fut laissé à l'ombre, dans un bâtiment où ne pénétrait que la lumière diffuse. Il montra des parasites trois jours, et mourut treize jours après l'inoculation.

Ceux exposés au soleil eurent dès le début une très forte hyperthermie (40°, 40° 5). Ils montrèrent des parasites après quatre et six jours d'incubation et moururent 24 et 32 jours après le début de l'expérience.

Ce sont là de trop légères différences pour que l'on puisse conclure à une action. Des cobayes inoculés dans les conditions ordinaires peuvent en montrer de plus fortes.

Trypanosomes et Septicémie microbienne. — Massaglia[1] dit qu' « une septicémie microbienne intercurrente (par exemple à streptocoques) fait disparaître les trypanosomes du sang. »

Nous avons pu vérifier le fait pour la bactéridie charbonneuse.

Le 30 août 1906, une chienne annamite de 2 ans reçoit 5 gouttes de sang du cobaye n° 2 (virus de Ban Don) contenant un trypanosome pour 6 champs.

Le 4 septembre : on voit les trypanosomes pour la première fois.

Le 10 : parasites très nombreux (5-6 par champ).

Le 14 : trypanosomes peu nombreux (1 pour trois champs). La chienne meurt le 16, à huit heures du soir. Les trypanosomes ne sont plus trouvés dans le sang, où pullulent des bactéridies.

Quelques jours auparavant, un de nos bœufs de voiture était mort spontanément de charbon. Quelques animaux d'expérience avaient été inoculés et avaient succombé. L'indigène chargé de nourrir la chienne avait manié ces cadavres.

1. *Loc. cit.*

Le chien anamite offre au charbon la même résistance que les animaux de race européenne. L'infection de Surra avait aboli cette résistance.

Conclusions

a. — Il semble que les épizooties à trypanosomes de l'Indo-Chine soient causées par le même parasite.

b. — Les parasites provenant des différents foyers de Surra peuvent présenter de notables variations d'activité.

Ces varations sont attribuables à la « généalogie » des parasites.

c. — Le buffle n'est pas vacciné par une première atteinte de Surra, et peut, au moins à deux reprises, être porteur de parasites virulents sans paraître malade.

On trouve des bœufs infectés en dehors de toute épizootie.

Le rôle des bovins et bubalins apparaît primordial dans la propagation du Surra.

La prophylaxie de cette affection peut donc se résumer ainsi :

1° Lutte contre les agents de transmission : drainages, déboisement, faucardement des cours d'eau, protection mécanique des écuries. Choix des terrains de pâture ;

2° Éloignement des équidés du réservoir de virus, — buffles et bœufs, — et dans les écuries et au pâturage ;

3° En attendant un agent curateur efficace, abatage des malades. Dépister les cas latents par la concentration en *lieu choisi* (à l'abri des taons) des animaux exposés à la contagion, par des prises de température, des examens de sang, des inoculations au rat.

d. — L'albuminurie semble constante au moment des « crises ».

e. — La salive des chevaux malades ne paraît pas virulente quand elle n'est pas souillée de sang.

f. — La chaleur et la lumière solaire ne semblent pas avoir

d'action modificatrice nette, en aucun sens, sur l'évolution du Surra.

g. — Les septicémies microbiennes (fièvre charbonneuse) font disparaître les trypanosomes.

Nhatrang, mars 1907.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux, — Imprimerie Charaire.

21me ANNÉE OCTOBRE 1907. N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA PROPHYLAXIE DE LA SYPHILIS

Rapport fait au XIIe Congrès international d'hygiène de Berlin.

PAR ÉLIE METCHNIKOFF

Invité par l'estimé président de notre section à vous faire un rapport sur la syphilis, j'ai l'honneur de vous entretenir des recherches que nous avons faites avec M. le Dr Roux, en collaboration avec M. le Dr Salmon.

Depuis le rapport que nous avons présenté au Congrès de Bruxelles en 1903, nos études expérimentales ont été dirigées principalement vers la découverte de quelque moyen pratique pour empêcher l'éclosion de la syphilis après l'infection par le virus.

Les tentatives pour préparer soit un sérum antisyphilitique efficace, soit un vaccin ne contenant pas de virus vivant ayant échoué, nous avons étudié, M. Roux et moi, l'action prophylactique des pommades à base de mercure. Les résultats positifs que nous avons obtenus ayant déjà été communiqués au Congrès de Dermatologie à Berne, en 1906, et publiés dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, en 1905 et 1906, nous nous bornerons à les résumer en quelques mots.

Nous avons établi que, parmi les pommades à base de mercure que nous avons expérimentées sur les singes, ce sont les pommades qui contiennent 25 à 33 0/0 de calomel pour 75 0/0 ou 67 0/0 de lanoline qui nous ont donné les meilleurs résultats.

Aux faits que nous avons exposés dans les mémoires mentionnés, nous pouvons ajouter toute une série de nouvelles expériences qui confirment pleinement le rôle préventif de la pommade au calomel convenablement préparée.

On nous a fait observer que les pommades qui contiennent une si grande quantité de lanoline manquent d'onctuosité, surtout en hiver lorsqu'elles sont exposées au froid. Dans le but de les rendre plus molles, nous avons modifié leur composition en ajoutant soit de la vaseline, soit de l'huile de pied de veau. Pour diminuer la quantité de préparation mercurielle, nous avons essayé de remplacer le calomel par des doses moindres de précipité blanc.

Sans entrer dans le détail de ces expériences, nous nous contenterons d'en

communiquer le résultat. L'addition d'un dixième de vaseline à la pommade au calomel, dont nous avons donné la formule, n'empêche d'aucune façon son action préventive, tandis que toutes les autres modifications que nous avons tentées lui ont fait perdre son efficacité. Nous n'avons pas eu plus de succès avec une pommade au nitrate d'argent, que nous avons essayée dans l'espoir d'empêcher en même temps la syphilis et la blennorrhagie.

Nous insistons sur l'emploi de la pommade contenant 33 grammes de calomel, 67 grammes de lanoline pure et 10 grammes de vaseline. Cette pommade est plus onctueuse que nos pommades originelles, bien qu'elle ne soit pas encore aussi molle qu'il le faudrait. Seulement, en présence des essais infructueux faits avec d'autres préparations, nous pensons que l'inconvénient de sa consistance trop grande ne doit point s'opposer à l'emploi préventif de la pommade dont nous venons de donner la formule. En plein hiver il n'y a qu'à la maintenir à l'abri du froid afin qu'elle garde suffisamment de souplesse pour être employée avantageusement.

Après le grand nombre de résultats favorables sur des singes, auxquels est venu s'ajouter une expérience concluante faite sur M. le Dr Maisonneuve qui a échappé à la syphilis grâce à l'emploi de la pommade au calomel appliquée une heure après une inoculation massive de virus, on aurait pu croire que la prophylaxie de la syphilis pénétrerait facilement dans la pratique courante. En réalité, elle a rencontré de vives objections de la part de plusieurs syphiligraphes. D'abord on lui a opposé les recherches expérimentales de M. le professeur Neisser et de ses collaborateurs de Batavia d'après lesquelles l'emploi de la pommade au calomel aurait donné autant d'insuccès que de succès. Mais, ainsi qu'il résulte de la communication de M. Neisser, faite au Congrès de Berne en septembre 1906, ses résultats négatifs se rapportent aux expériences dans lesquelles il avait employé des pommades « Kalomel-Kochsalzsalbe » et « Kalomel-Wassersalbe » qui ne contenaient que 10 0/0 de calomel. Ces résultats, au lieu de contredire les nôtres, se trouvent en parfaite harmonie avec eux et démontrent une fois de plus que les pommades qui contiennent moins de 25 0/0 de calomel sont inefficaces.

Malgré ces faits et malgré que M. Neisser recommande lui-même l'emploi préventif d'une pommade à 30 0/0 de calomel, quelques syphiligraphes continuent à le citer comme adversaire de notre méthode. D'autres insistent sur l'insuffisance de nos expériences et sur les résultats négatifs de quelques observations sur l'homme. Aux deux cas insuffisamment étudiés par MM. Gaucher et Lévy Bing, dont nous avons fait la critique dans le cinquième mémoire sur la syphilis que nous avons publié, M. Roux et moi, il est venu s'en ajouter un troisième. Nous en avons eu connaissance par les Annales des maladies vénériennes où nous avons trouvé un article intitulé : « Sur un nouveau cas de syphilis malgré l'emploi de la pommade au calomel ». Il s'agit « d'un Péruvien de passage à Paris, qui, confiant dans l'efficacité de la pommade au calomel, avait cru pouvoir, sans danger, profiter largement de son séjour dans la capitale. Malgré ce moyen prophylactique, il fut contaminé. » Nous n'avons trouvé aucun renseignement sur la composition de cette « pommade au calomel » restée sans effet.

Persuadés que, pour être efficace, la pommade doit correspondre à notre formule et désireux de nous rendre compte des pommades que le client peut trouver chez les pharmaciens, nous avons prié un de nos amis de nous procurer quelques-unes de ces préparations provenant de plusieurs pharmacies de Paris. Nous en avons ainsi reçu toute une collection que nous avons soumise à l'épreuve. La personne de confiance demandait aux pharmaciens de la pommade préventive contre la syphilis. Quelques-uns renvoyaient le client, affirmant qu'une telle pommade n'existait pas; d'autres fournissaient la pommade du Codex dont le simple aspect était tout différent de la vraie pommade préventive et qui contenait 10 0/0 de calomel et 90 0/0 de vaseline. Un pharmacien donna à notre envoyé une pommade étiquetée « Pommade de Metchnikoff » qui ne contenait que 9 0/0 de calomel, d'après l'analyse faite par M. Villa, préparateur à l'Institut Pasteur. Plusieurs pharmaciens ont lancé des spécialités, sous différents titres, préconisant leur effet préventif contre la syphilis et citant abusivement nos noms ou celui de l'Institut Pasteur. Quelques-unes de ces préparations correspondaient à notre formule, tandis que d'autres lui étaient absolument étrangères.

Il n'est guère étonnant que, dans ces conditions, des personnes qui usent de ces pommades au calomel inefficaces soient atteintes de syphilis. Seulement, au lieu de démontrer l'inutilité de la méthode, ces exemples ne font que démontrer la défectuosité de sa mise en pratique.

Puisque la prophylaxie de la syphilis par la pommade au calomel repose sur des faits expérimentaux rigoureusement établis, il n'y a aucune possibilité de la mettre sérieusement en doute. Seulement, cette méthode n'ayant d'efficacité que si elle est employée dans les quelques heures qui suivent le contact infectieux, elle peut rester impuissante dans certains cas. Il nous est arrivé de recevoir les doléances de personnes venant de constater qu'elles avaient été en contact avec des individus syphilitiques plusieurs jours auparavant. A leur question : dans ces conditions, la pommade au calomel peut-elle encore être utile ? nous répondions naturellement par la négative. Mais, persuadés que des exemples pareils sont loin d'être rares dans la vie courante, nous avons cherché quelque moyen préventif, capable d'empêcher l'éclosion de la syphilis à un moment où la pommade au calomel n'a plus d'action.

Après que M. Uhlenhuth eut démontré l'efficacité de la préparation arsénicale, connue sous le nom d'Atoxyl, dans les infections spiriliennes des animaux, et que M. le Dr Salmon eut fait connaître les premiers succès obtenus avec ce médicament dans le traitement des accidents syphilitiques, il était tout naturel de se demander si l'Atoxyl n'avait pas la propriété d'empêcher la syphilis plus ou moins longtemps après l'infection.

Profitant de l'expérience de M. Salmon dans le maniement de l'atoxyl, nous nous sommes associés avec lui pour exécuter plusieurs séries d'expériences sur le rôle prophylactique de cette préparation. Indépendamment de nous, cette question a été étudiée par MM. Uhlenhuth, Hoffmann et Roscher qui ont soumis des singes, aussitôt après les avoir inoculés avec du virus syphilitique, aux injections répétées d'atoxyl. Huit animaux traités de cette façon restèrent indemnes. Mais, comme quelques-uns des témoins, qui

n'avaient pas reçu d'atoxyl, ne manifestèrent pas non plus d'accidents syphilitiques, les savants nommés se sont gardés de tirer de leur expérience une conclusion définitive. Dans son rapport sur l'étiologie de la syphilis, présenté à ce congrès, M. Hoffmann considère comme « encourageants » les résultats obtenus sur la prophylaxie à l'aide de l'atoxyl.

Dans notre première expérience, deux macaques javanais ont subi le traitement par des doses répétées d'atoxyl après l'inoculation du virus syphilitique, faite aux arcades sourcilières. Le premier de ces singes a reçu la première dose de 15 centigrammes le jour même de l'inoculation. Il en reçut encore 5 autres dans l'espace de 17 jours, ce qui a fait au total une quantité de 90 centigrammes. Pour un animal qui ne pesait pas 5 livres (2.360 grammes) elle était trop forte car, déjà après la deuxième injection, il manifesta une paralysie passagère des pattes postérieures. Par contre, le second macaque ne reçut en tout que 30 centigrammes en 4 injections, dont la première n'était pratiquée que le huitième jour après l'inoculation.

Les deux singes, étant restés définitivement indemnes de tous accidents syphilitiques, cette expérience nous démontre la possiblilité de prévenir ceux-ci par l'atoxyl. Cinq autres macaques (3 javanais et 2 rhésus), inoculés avec les mêmes virus, ont accusé des chancres typiques aux endroits inoculés. Deux de ces témoins n'avaient subi aucun traitement, tandis que 3 autres avaient été traités avec des pommades autres que celle que nous recommandons pour la prophylaxie de la syphilis. Malgré ce traitement, les 3 macaques ont été pris de chancres des plus typiques.

Afin d'établir si l'éclosion de la syphilis pouvait être empêchée par des doses plus faibles d'atoxyl, un macaque bonnet chinois ne reçut en tout que 20 centigrammes, répartis en 4 injections, faites pendant les premiers jours après l'inoculation du virus. Cette fois encore le résultat a été positif, c'est-à-dire que le singe resta indemne, tandis que ses 3 témoins contractèrent le chancre syphilitique.

Cette expérience ayant démontré que des doses relativement faibles d'atoxyl suffisaient déjà pour empêcher la syphilis, nous en avons fait une autre dans laquelle nous nous sommes contentés d'une seule injection d'atoxyl. Un macaque rhésus de 3 kilos, inoculé avec du virus aux arcades sourcilières, resta indemne à la suite d'une injection de 15 centigrammes d'atoxyl faite le huitième jour après l'inoculation. Trois témoins, dont un rhésus, un papion et un javanais, contractèrent la maladie.

Comme le rhésus est, parmi les macaques, le moins sensible à la syphilis, on pouvait supposer que l'immunité, dans notre expérience, était due non pas à l'action de l'atoxyl, mais simplement à un certain degré de résistance naturelle ; aussi, dans une autre expérience, nous avons pris 4 bonnets chinois dont 3 furent soumis au traitement et un seul gardé comme témoin. Le premier de ces animaux avait reçu 15 centigrammes d'atoxyl le lendemain, le second reçut la même dose le quinzième jour après l'inoculation du virus. Le troisième, un gros macaque de 3 kilos, ne fut injecté qu'avec 10 centigrammes et ceci 15 jours après l'inoculation des produits syphilitiques. Seul le témoin accusa un chancre induré, 34 jours après le début de l'expérience.

Dans le but d'établir la dose minima d'atoxyl capable d'empêcher la

syphilis, un rhésus ne reçut que 25 miligrammes. Cette fois le résultat a été négatif, car le singe contracta l'accident primaire.

Après avoir établi qu'introduit sous la peau l'atoxyl empêche l'éclosion du chancre, même lorsqu'il n'a été injecté qu'une seule fois 2 semaines après l'inoculation, à la dose relativement faible de 33 milligrammes par kilo l'animal, il a fallu rechercher la limite pendant laquelle s'exerce encore son action préventive. Dans cette intention, un bonnet chinois reçut une injection de 10 centigrammes tout à fait au début de son accident primaire. Le chancre a été arrêté pendant un moment, mais ne tarda pas à présenter une récidive.

Pour compléter l'étude de la prophylaxie par l'atoxyl, 2 macaques, ayant été auparavant traités à titre préventif avec succès, furent soumis à une nouvelle infection, non suivie de traitement. Un de ces animaux, inoculé 77 jours, et un autre, inoculé 91 jours après la première inoculation, contractèrent tous les deux l'accident primaire caractéristique. Cette expérience démontre qu'à la suite de la première inoculation il n'y a eu ni généralisation du virus, ni immunité consécutive.

Dans la prophylaxie des maladies infectieuses, plus une méthode est simple, plus elle a de chances d'être appliquée : nous avons donc recherché si l'absorption de l'atoxyl par la bouche suffirait pour empêcher l'éclosion de la syphilis. Nos multiples tentatives n'ont donné que des résultats trop imparfaits pour qu'il soit nécessaire d'en parler longuement.

Autant les injections sous-cutanées d'atoxyl sont efficaces et inoffensives, à moins d'employer des doses trop fortes, autant l'ingestion de l'atoxyl est sujette à caution.

Le but principal de nos expériences sur les singes était de savoir si l'emploi de l'atoxyl pouvait être de quelque utilité pour la prévention de la syphilis à une période où les pommades au calomel n'ont plus d'action. Le fait qu'une seule injection, pratiquée jusqu'à 15 jours après l'inoculation du virus, empêche l'infection, présente déjà une grande importance. Mais surgit la question de la toxicité de l'atoxyl, qui a tant attiré l'attention de la part des médecins qui manient ce médicament. Si cette préparation arsénicale menace sérieusement la vue, on comprend qu'on hésite à l'employer, surtout dans un but prophylactique. Si les doses suffisantes pour les singes doivent servir de base pour calculer la quantité d'atoxyl que l'on doit injecter à un homme, il en faudrait environ 2 grammes pour une personne de 60 kilos. Seulement, comme des quantités moins fortes suffisent déjà pour guérir les accidents syphilitiques déclarés, il faut croire que la prophylaxie pourrait être obtenue avec des doses encore plus faibles. M. Hallopeau, qui a la plus grande expérience dans le traitement de la syphilis par l'atoxyl, recommande une injection de 75 centigrammes, suivie d'une seconde injection de 60 centigrammes et d'une troisième de 50, ce qui fait en tout 185 centigrammes. Dans aucun cas d'un pareil traitement il n'a observé de phénomènes d'intolérance et d'intoxication.

Dans une de nos expériences, un macaque rhésus n'avait reçu que 5 centigrammes d'atoxyl, le onzième jour après l'inoculation du virus. Il mourut 46 jours après sans aucune manifestation syphilitique. Bien que ce délai

ne soit pas encore absolument définitif, car nous avons vu des incubations de plus de 50 jours, il reste néanmoins très probable qu'une dose de 5 centigrammes pour un singe de plus de 2 kilos suffit pour empêcher l'éclosion de la syphilis.

Avant d'avoir pu répéter cette expérience, nous avons été mis dans la nécessité d'en faire une application chez l'homme. Un homme de haute culture intellectuelle s'est présenté chez nous très inquiet à la suite d'un contact suspect ayant eu lieu 5 jours auparavant. A notre question : Pourquoi ne vous êtes pas servi de la pommade au calomel? il nous a répondu que ce moyen préventif lui était absolument inconnu et qu'en général le public l'ignore. Dans son état de grande anxiété il nous priait instamment de le soumettre à un traitement préventif par l'atoxyl. Bien qu'il ne fût pas possible d'établir d'une façon précise si le contact suspect faisait courir au patient un danger réel, M. le Dr Salmon, se basant sur les expériences avec les singes, se décida tout de même à faire au personnage en question 2 injections sous-cutanées d'atoxyl, de 50 centigrammes chacune, à 2 jours d'intervalle. Ce traitement a relevé l'état moral du patient qui est resté indemne de tout accident syphilitique et qui ne manifesta non plus aucun symptôme d'intoxication.

Dans le second cas, M. Salmon a eu affaire à un neurasthénique qui ne dormait plus et désirait à tout prix être traité préventivement dans la crainte d'avoir été infecté par la syphilis. Il reçut 2 injections de 50 centigrammes d'atoxyl sans la moindre intolérance. Nous ne voulons, bien entendu, tirer aucune conclusion de ces deux observations.

Il y a lieu d'espérer que, dans l'avenir, lorsqu'on sera en possession de préparations arsénicales moins toxiques que l'atoxyl et cependant efficaces contre la syphilis, on pourra prévenir celle-ci, pendant la période d'incubation, longtemps après que la pommade au calomel n'a plus d'action. Les expériences qui peuvent mener à ce résultat sont en train. Mais pour le moment, tant qu'elles ne sont encore qu'à la période d'essai, c'est la prévention par la pommade au calomel, dès les premières heures après le contact infectieux, qui doit être placée au premier plan.

L'efficacité si remarquable de cette pommade, ainsi que celle des injections sous-cutanées d'atoxyl sur les singes, indique que le virus syphilitique, pendant une grande partie de sa longue incubation, ne s'adapte que difficilement à l'organisme. Nous avons examiné la sérosité extraite des endroits de l'inoculation chez un chimpanzé et chez deux macaques, pendant la période d'incubation au moyen de l'ultracondensateur de Reichert, qui permet de distinguer très facilement les spirilles syphilitiques sur un fond noir et fournit le meilleur moyen pour révéler la présence de ces microbes même en quantité minime. Eh bien, malgré ces conditions si favorables, nous n'avons pas pu déceler la présence des spirilles de Schaudinn pendant les 15 jours qui ont suivi l'inoculation du virus. Ce fait montre que les spirilles mettent un temps très long avant de se reproduire en quantité appréciable. Et c'est pour cette raison que la prophylaxie de la syphilis est relativement simple et facile. Ce qui est plus difficile, c'est d'en convaincre le public et cela pour des raisons dont quelques-unes ont été signalées plus haut. Cet exemple du

traitement préventif de la syphilis montre une fois de plus l'utilité de la différenciation de l'hygiène des autres branches de la médecine, notamment de la thérapeutique.

Les progrès de l'hygiène rationnelle imposent aux médecins le devoir d'apprendre aux gens bien portants les moyens de conserver intacte leur santé. Nulle part, mieux que dans les maladies vénériennes, ce but prophylactique peut être atteint.

Recherches sur le cancer expérimental des souris

Par J. BRIDRÉ

(Travail du laboratoire de M. Borrel.)

Les expériences que nous avons entreprises depuis deux ans ont eu pour principal but l'immunisation des souris contre l'inoculation d'une tumeur facilement transplantable.

Si nous nous servons, dans l'exposé de ces recherches, des termes d'immunité, de virulence, d'inoculation, de vaccination, nous ne voulons nullement préjuger ici de la nature étiologique des tumeurs cancéreuses et donner à ces expressions le sens précis qu'elles ont en bactériologie. Le mot *immunité* pourrait être remplacé — comme le désirent Bashford, Murray et Cramer [1] — par celui de *résistance*. La *virulence* d'une tumeur indique seulement la faculté que cette tumeur possède de se développer dans l'organisme des animaux auxquels on l'inocule ; pour les partisans de la théorie cellulaire, elle marquerait plutôt le *degré de vitalité* des cellules du tissu inoculé. L'*inoculation* d'un cancer est, en réalité, une *greffe* ou une *bouture*. Enfin, si nous parlons de *souris vaccinées*, il s'agira de souris ayant subi une préparation devant leur procurer une certaine résistance vis-à-vis de l'inoculation d'une tumeur virulente.

Des expériences d'inoculation ont été possibles à partir du moment où l'on a eu une tumeur facilement inoculable et avec un fort pourcentage de succès. C'est le cas de la tumeur B.

INOCULATIONS EN SÉRIES DE LA TUMEUR B.

La tumeur B est un adéno-carcinôme qui se distingue des tumeurs du même genre connues jusqu'à présent, par la forme

1. B., M., et Cr., The natural and induced Resistance of mice to the growth of cancer, *Proceed. Roy. soc.* T. LXXIX, 1907.

cylindrique de ses cellules. Les figures 1 et 2 montrent, mieux que ne pourrait le faire toute description, la constitution de cette tumeur.



Fig. 1. — Tumeur B à un faible grossissement. Type glandulaire très net.

Manuel opératoire des inoculations. — Toutes les inoculations ont été pratiquées au moyen d'aiguilles creuses d'un diamètre de

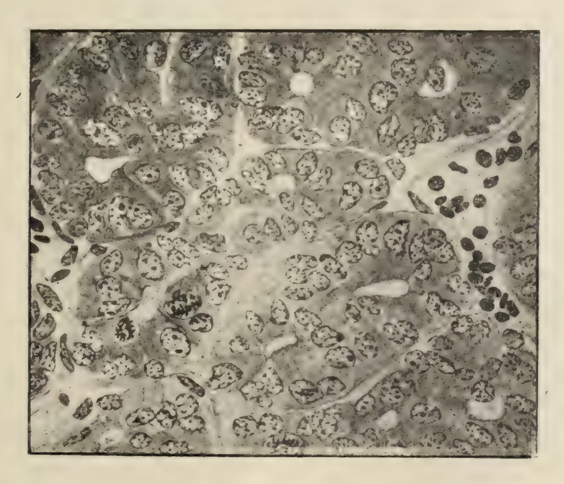


Fig. 2. — La même tumeur à un fort grossissement, l'épithélium est à cellules cylindriques.

2 mm. avec mandrin formant piston, sortes de trocarts dont la canule est taillée en biseau et la tige mousse.

Les aiguilles sont stérilisées avant chaque inoculation.

Un petit fragment de tissu cancéreux étant introduit dans l'aiguille par aspiration, l'aiguille est glissée sous la peau de la souris, depuis l'aîne jusqu'à l'aisselle ; à l'aide du mandrin, on pousse le fragment de cancer, puis on retire l'aiguille. A cause de l'élasticité du tissu conjonctif sous-cutané, le fragment de tumeur, qui paraissait avoir été chassé sous l'aisselle, se trouve alors sur le côté du thorax, en arrière de l'épaule. Dans le long trajet qu'elle parcourt, l'aiguille se débarrasse des souillures qu'elle a pu contracter en traversant le poil et la peau, et le fragment inoculé reste aseptique.

Nous avons adopté cette façon d'opérer parce qu'elle nous a donné le plus grand nombre de succès. Pour qu'une inoculation soit positive, il faut — outre la virulence de la tumeur et la réceptivité de l'animal inoculé, conditions essentielles, — que les fragments de cancer soient assez volumineux. Des cellules isolées, même entières et vivantes en suspension dans l'eau, ne donnent pas de résultats positifs.

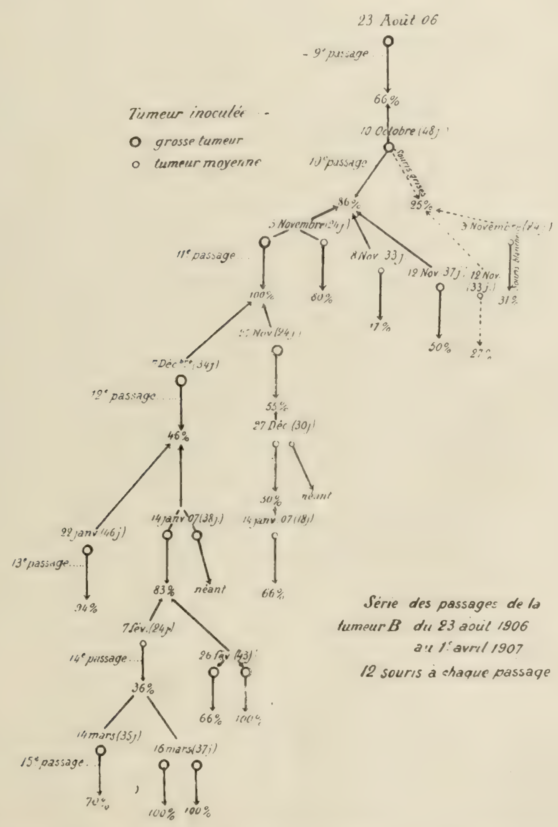
Développement de la tumeur inoculée. — La tumeur d'inoculation se développe généralement vite ; elle atteint souvent, en 8 jours, la grosseur d'un pois, et, en 15 jours, le volume d'une noisette ; des tumeurs de trois semaines peuvent peser 8 grammes et plus. Lorsqu'une certaine dimension est atteinte (grosse amande verte), il se forme des kystes, la tumeur adhère à la peau et s'ulcère : la souris meurt d'infections secondaires.

Il est rare de voir des tumeurs se développer, passé le délai de 3 semaines que nous avons adopté pour les pourcentages. Nous avons observé, toutefois, un cas de *croissance tardive* qui mérite d'être signalé : une souris inoculée en mai 1905, sur le côté droit du thorax, avait été mise à part, en compagnie d'autres souris « n'ayant pas pris » à la même inoculation ; le 14 février 1906, huit mois plus tard, on constate, chez cette souris, une petite tumeur de la grosseur d'une lentille au point d'inoculation. Après biopsie pratiquée le 23 février, l'examen histologique montre que la tumeur appartenait bien au type B. (Il ne s'agissait pas d'une tumeur spontanée.)

Les *métastases*, si fréquentes dans les inoculations de tumeur

Jensen sur les souris parisiennes [1] et dans les inoculations de tumeur du type R (tumeur de Paris [2]), n'ont jamais pu être observées ici avec la tumeur B, malgré le nombre considérable de souris cancéreuses autopsiées.

Choix des souris. — Nous employons, comme sujets d'expériences, des souris adultes de 20 grammes environ, et, de préférence, des mâles, *la faible proportion d'inoculations positives fournie par les femelles pleines* pouvant être une cause d'erreur dans les résultats.



Pourcentage des inoculations positives ; variations de la virulence. — La proportion des inoculations positives est établie trois semaines après l'inoculation.

1. A. Borrel et Haaland, Tumeurs de la souris, *Soc. de biologie*, 1905.

2. M. Haaland, Les tumeurs de la souris, Ces *Annales*, mars 1905, t. XXI, p. 136.

Les premières inoculations de la tumeur B donnèrent 30 à 40 0/0 de succès, proportion énorme si on la compare à celle qui avait été obtenue avec les tumeurs étudiées jusqu'alors.

Les passages successifs augmentèrent la proportion d'inoculations positives, qui atteignit 80 et même 100 0/0; puis, au 8e passage, elle tomba à 30 0/0. De semblables *variations de virulence* sont très fréquentes : l'arbre de descendance (page 763) d'une tumeur de 8e passage montre quelques-unes de ces variations et permet de faire les remarques suivantes :

1° Des tumeurs de même passage (10e, 12e) peuvent fournir, à l'inoculation, des proportions très différentes de cas positifs;

2° L'âge et le volume des tumeurs ne paraissent pas avoir d'influence précise sur les résultats des inoculations. (Inoculations du 27 décembre, du 22 janvier, etc.)

Nous devons dire, cependant, que le plus grand nombre de succès a été fourni par des tumeurs âgées de 20 jours au moins, et présentant une tendance à former des kystes. Il paraît indifférent d'inoculer telle ou telle partie de la tumeur;

3° Enfin, *la race des souris* a une grande importance : les souris grises donnent une proportion de succès très inférieure à celle qui est fournie par les souris blanches; et *le passage chez les souris grises atténue la virulence de la tumeur pour les souris blanches*.

En résumé, chaque tumeur expérimentale possède un virulence propre, individuelle, vis-à-vis des souris de même race, et appréciable uniquement par l'inoculation.

RECHERCHES SUR L'IMMUNITÉ ANTI-CANCÉREUSE

1° VACCINATION PAR TISSU CANCÉREUX FRAIS

a) *Souris ayant résisté à une première inoculation.* — Pour Ehrlich [1], des souris qui ont subi sans succès l'inoculation d'une tumeur virulente ne prennent qu'exceptionnellement une tumeur à une deuxième inoculation : elles sont vaccinées par la première épreuve.

Nos expériences nous ont donné des résultats notablement différents de ceux d'Ehrlich : ils se rapprochent plutôt de ceux qu'a obtenus Michaelis.

1. P. EHRLICH, Experimentelle Karzinomstudien an Maüsen. *Zeitschrift für ärtzliche Fortbildung*. Troisième année, 1906, n° 7.

Exemples : 1° Sur 14 souris inoculées sans succès, en octobre 1905, avec une tumeur qui avait donné 50 0/0 de cas positifs, et réinoculées le 9 février 1906, 7 ont pris des tumeurs, soit 50 0/0. Souris neuves témoins : 80 0/0 de tumeurs ;

2° Sur 10 souris inoculées sans résultat, le 4 janvier 1906, avec une tumeur donnant 60 0/0 de succès, 3 prennent des tumeurs à l'inoculation du 9 février, soit 33 0/0. Témoins : 80 0/0 ;

3° Sur 63 souris inoculées sans succès le 27 novembre 1906, avec une tumeur ayant fourni 55 0/0 de cas positifs, 2 prennent des tumeurs à une inoculation pratiquée le 27 décembre ; soit 3 0/0. Témoins : 8 0/0.

A quoi tiennent de telles différences dans les résultats obtenus par les divers expérimentateurs ? On pourrait objecter, en ce qui concerne les résultats d'Ehrlich, que des souris, qui ont résisté à l'inoculation d'une tumeur très virulente donnant 80 à 90 0/0 de succès, ont manifesté une résistance naturelle considérable, et qu'il n'y a rien de surprenant à ce qu'elles résistent de même à une deuxième inoculation ; cette dernière épreuve négative ne prouverait pas qu'il y a eu vaccination ; il pourrait y avoir eu simplement une sélection établie parmi les souris.

Dans cette hypothèse, les expériences 1 et 2, relatées ci-dessus, seraient explicables : on comprendrait que des souris qui ont résisté à l'inoculation d'une tumeur de virulence moyenne puissent prendre une tumeur beaucoup plus virulente. Mais l'expérience 3 vient en opposition avec ce raisonnement : des souris, qui ont résisté à l'inoculation d'une tumeur ayant donné 55 0/0 de succès, prennent une tumeur qui ne fournit que 8 0/0 de cas positifs sur les souris neuves !

Les résultats différents sont probablement dus à un mode d'inoculation différent : Ehrlich inocule, à la pipette, un broyage grossier et épais de tissu cancéreux ; la quantité de tissu injecté représente un nombre considérable de petits fragments analogues à ceux que nous introduisons sous la peau des souris : il y a ainsi résorption d'une assez forte proportion de tissu et on comprend qu'il y ait, dans ces conditions, formation d'un anticorps en quantité suffisante pour empêcher le succès d'une seconde inoculation. L'inoculation d'un petit fragment, au trocart, n'est nullement comparable.

Nous verrons, par la suite, que cette explication est appuyée par des expériences précises.

D'autre part, Ehrlich prétend que l'inoculation négative d'une tumeur, même avirulente, peut conférer aux souris l'immunité contre l'inoculation d'une tumeur virulente de type différent : l'inoculation négative d'un carcinôme hémorrhagique — doué d'une virulence insignifiante — produirait l'immunité, non seulement contre un carcinôme très virulent, mais aussi contre le sarcôme ; réciproquement, le sarcôme vaccinerait contre le carcinôme (immunité croisée) et ces deux types de tumeurs vaccineraient contre le chondrôme.

Les expériences ci-dessous montrent que la quantité de tissu injecté doit jouer le principal rôle dans de tels résultats, l'inoculation d'un petit fragment au trocart ne produisant qu'une immunité très faible :

Exp. 1 : 13 souris inoculées sans succès, le 31 décembre 1905, avec une tumeur M (adéno-carcinôme qui n'a pu donner aucun passage) sont inoculées le 15 mars 1906 avec la tumeur B :

Résultat : sur 13 souris inoculées 10 tumeurs. 71 0/0.
— 62 — témoins 51 — 82 0/0.

Exp. 2 : 13 souris inoculées sans succès, le 31 décembre 1905, avec la tumeur M, sont inoculées, le 15 mars suivant, avec la tum. Jensen.

Résultat : Sur 13 souris réinoculées, 3 tumeurs. 23 0/0.
— 62 — témoins 19 — 32 0/0.

Exp. 3 : 4 souris, inoculées sans succès. le 28 mars 1906, avec la tum. Jensen, sont inoculées, le 16 mai, avec la tum. B.

Résultat : 4 souris réinoculées 1 tumeur 25 0/0.
2 — témoins 19 — 95 0/0.

b) *Souris ayant résisté à plusieurs inoculations successives.* Les souris qui ont reçu, à deux reprises, un fragment de cancer sous la peau sans présenter de tumeur à la suite de ces inoculations, peuvent être impunément inoculées une troisième fois. C'est du moins la conclusion que nous pouvons tirer de nos expériences. (Michaelis[1] a observé des cas d'inoculations positives sur des souris ayant subi déjà trois inoculations infructueuses, mais il n'indique pas le mode d'inoculation employé.)

Les inoculations successives, pratiquées sur une souris, renforcent l'immunité naturelle que cette souris a manifestée en résistant à une première inoculation ; l'immunité devient alors assez forte pour permettre à l'animal de supporter impunément l'inoculation d'une tumeur très virulente, donnant jusqu'à 100 0/0 de succès chez les témoins.

1. MICHAELIS, *Soc. méd. int.* Berlin, avril 1907.

c) *Souris ayant reçu, une ou plusieurs fois, des injections sous-cutanées de tissu cancéreux broyé.* — Le tissu étant broyé, le plus finement possible, dans une petite quantité d'eau physiologique, on injecte, à la seringue ou à la pipette, sous la peau des souris, une quantité de broyage représentant, en tissu frais, au moins 5 à 6 fois le volume du fragment qui sert aux inoculation ordinaires. Il peut arriver que des tumeurs se développent à la suite de la 1re injection ; c'est exceptionnel quand le broyage est bien fait.

Les souris ainsi traitées sont fortement vaccinées, et il est remarquable qu'une seule injection suffise à les immuniser :

Un 1er lot de	6 souris	est traité	1	fois.
Un 2e	—	—	—	2	—
— 3e	—	—	—	3	—

Toutes les souris traitées sont inoculées *sans succès* le 27 novembre 1906, alors que 20 souris témoins donnent 11 tumeurs, soit 55 0/0.

Ces résultats viennent à l'appui de ce que nous disions plus haut sur le rôle de la quantité de tissu injecté dans la production de l'immunité, rôle dont l'importance a déjà été signalée par Bashford ; ils expliquent parfaitement l'immunité presque absolue constatée par Ehrlich sur les souris qui ont résisté à une 1re inoculation *pratiquée à la pipette.*

d) *Souris ayant subi une ou plusieurs injections sous-cutanées de macération de tumeur fraîche.* — La macération est obtenue de la façon suivante : la tumeur est broyée finement, comme dans les expériences précédentes, mais avec une quantité d'eau physiologique un peu plus grande : 5 grammes de tissu cancéreux dans 25 à 30 c. c. d'eau physiologique. On laisse déposer quelques minutes. Le liquide trouble qui surnage est injecté à la dose de 2 c. c. sous la peau des souris. De pareilles injections ne donnent jamais de tumeurs.

Exp. 1 : Un lot de 12 souris reçoit de la macération les 10 février, 1er mars et 20 avril 1906 ; 11 souris restantes sont inoculées le 16 mai, en même temps que 20 souris neuves, témoins :

Résultat : 11 traitées,	1 tumeur	soit :	9 0/0.
20 témoins,	19 —	—	95 0/0.

Exp. 2 : 7 souris sont traitées une seule fois, le 11 juin, par une injection de macération, et inoculées le 20 juin, en même temps que 4 témoins :

Résultat : 7 traitées,	0 tumeur.	0 0/0.
4 témoins,	2 —	50 0/0.

Les injections de macération procurent donc aux souris une grande résistance à l'inoculation d'épreuve; l'immunité n'est pas absolue, et, comme le montre l'expérience 1, l'inoculation d'une tumeur très virulente peut vaincre cette résistance sur une petite proportion de souris.

c) *Souris traitées par la macération filtrée et centrifugée.* — Si on soumet à la filtration sur papier et à la centrifugation la macération préparée comme ci-dessus, et qu'on injecte à des souris le liquide clair obtenu, on ne donnera jamais de tumeurs, et les souris n'acquerront pas d'immunité marquée contre l'inoculation d'épreuve. Traitées, 40 0/0 de tumeurs; témoins, 50 0/0.

Ceci montre que les éléments cellulaires sont indispensables pour produire l'immunité.

2° VACCINATION PAR TISSU CANCÉREUX DESSÉCHÉ.

Souris traitées par du broyage de tissu cancéreux desséché. — La dessiccation est opérée dans le vide, en présence de l'acide sulfurique, et le tissu sec conservé en tubes scellés, à la glacière. Si, au bout d'un temps plus ou moins long, un mois ou deux, par exemple, on broie finement le tissu dans de l'eau physiologique et si on l'injecte sous la peau des souris, celles-ci ne prennent pas de tumeurs, mais ne présentent à l'inoculation d'épreuve qu'une immunité relative.

Voici le résultat d'ensemble des expériences faites avec le tissu desséché :

20 souris	traitées inoculées :	5 tumeurs,	soit 25 0/0.
24 —	témoins —	13 —	— 54 0/0.

3° VACCINATION PAR TISSU CANCÉREUX CHAUFFÉ.

a) *Souris ayant reçu des fragments de tumeur chauffés.* — De petits fragments, semblables à ceux qui servent aux inoculations ordinaires, sont plongés dans de l'eau physiologique et chauffés — au bain-marie et en tubes clos — à diverses températures, à partir de 50°. L'inoculation de ces fragments n'est jamais suivie de succès et elle ne procure aux souris qu'une résistance peu appréciable :

Ainsi, 10 souris reçoivent, le 2 mai 1906, des fragments chauffés; elles sont inoculées le 28, en même temps que 8 témoins.

Résultat : 10 traitées, 4 tumeurs. 40 0/0.
8 témoins, 5 — 62 0/0.

La quantité de tissu injecté joue encore ici un rôle important : les expériences ci-dessous vont en fournir la preuve.

b) *Souris traitées par du broyage chauffé.* — Le broyage fin, peu dilué, est chauffé pendant 25' à 55°. On injecte, à la seringue ou à la pipette, une quantité de broyage chauffé équivalente à celle qui a été employée dans les expériences de vaccination à l'aide de broyage frais. Aucune tumeur n'apparait à la suite de ces injections et l'*immunité obtenue se montre absolue :*

5 souris sont traitées,	1 fois :	le 24 octobre 1906.			
4 —	—	2 —	26 —		3 novembre.
5 —	—	3 —	26 —		3 nov., 12 novembre.

Toutes ces souris sont inoculées *sans succès* le 27 novembre. Sur 20 souris témoins, 11 tumeurs ; soit 55 0/0.

c) *Souris traitées par la macération chauffée.* — La macération, préparée comme il a été indiqué plus haut, est chauffée à des températures variant entre 40° et 60° et pendant des temps variables :

14 souris traitées par une seule injection donnent, à l'inoculation d'épreuve, 2 tumeurs, soit 14 0/0. Témoins 50 0/0.

Si nous comparons les différents résultats obtenus : d'une part, avec les injections de tissu cancéreux frais ; d'autre part, avec les injections de tissu cancéreux chauffé, nous constatons :

1° Que la vaccination la plus parfaite résulte de l'emploi du tissu frais ;

2° Que les deux séries d'expériences sont superposables en ce sens que l'immunité acquise est d'autant plus forte que la quantité de tissu injecté est plus considérable. La meilleure vaccination, dans chaque série, est obtenue avec le broyage ; elle est moins assurée par l'emploi de la macération et elle est très imparfaite par l'inoculation négative d'un fragment.

4° VACCINATION PAR INJECTIONS DE TISSUS NORMAUX DE SOURIS

Nous nous sommes servi, pour ces injections, de sang frais et d'organes broyés : foie, rate, testicule.

a) *Sang frais.* — Le sang, prélevé sur une souris neuve, est injecté immédiatement sous la peau d'une autre souris ;

la quantité de sang ne dépasse guère 1/4 c. c. Les souris traitées à deux reprises n'ont présenté qu'une faible immunité à l'inoculation d'épreuve :

40 0/0 de tumeurs, au lieu de 55 0/0 chez les témoins.

(Bashford avait obtenu une résistance plus marquée contre la tumeur Jensen : 20 0/0 de tumeurs chez les traitées, 68 0/0 chez les témoins).

b) *Foies broyés.* — Les foies sont broyés aseptiquement et légèrement dilués dans l'eau physiologique; les injections sont pratiquées immédiatement après le broyage et répétées 3 fois, à 12 jours d'intervalle.

Sur	8	souris traitées :	1	tumeur,	soit	12 0/0
—	20	— témoins :	11	—	—	55 0/0

Il y a donc une immunité certaine. Schöne, Bashford ont obtenu des résultats analogues.

c) *Rates broyées.* — Même façon d'opérer qu'avec les foies :

Sur	8	souris traitées :	0	tumeur,	soit	0 0/0
—	20	— témoins :	11	—	—	55 0/0

L'immunité est absolue.

d) *Testicules broyés.* — Les injections de broyage testiculaire n'ont donné aux souris aucune résistance vis-à-vis de l'inoculation de la tumeur B :

Sur	6	souris traitées :	3	tumeurs,	soit	50 0/0
—	20	— témoins :	11	—	—	55 0/0

Il est indiscutable que les injections de certains tissus normaux de souris ne soient capables de conférer aux souris une immunité plus ou moins grande, vis-à-vis de l'inoculation cancéreuse. Cette constatation nous amène à conclure que l'immunité manifestée par les souris traitées n'est pas spécifique, qu'elle n'est pas une immunité anticancéreuse véritable, mais plutôt, comme le disent *B.*, *M.* et *Cr.*, « une iso-immunité vis-à-vis de tissu de l'espèce souris ».

INOCULATIONS SIMULTANÉES, CHEZ LA MÊME SOURIS, DE DEUX TUMEURS DE TYPES DIFFÉRENTS

Les tumeurs inoculées sont : la tumeur Jensen et la tumeur B. Des souris inoculées simultanément avec ces deux tumeurs, en des points différents, prennent ces tumeurs avec les mêmes

proportions de succès que si on avait inoculé ces tumeurs individuellement.

Ainsi, sur 50 souris inoculées : à gauche, avec la tumeur Jensen ; à droite, avec la tumeur B, 40 présentent des tumeurs B, et 15 des tumeurs Jensen : ces dernières souris portent deux tumeurs. Aucune des souris indemnes de tumeur B n'a pris la tumeur Jensen : tandis que 25 souris ont pris la tumeur B sans prendre la tumeur Jensen.

Cette constatation est intéressante ; les souris utilisées dans ces expériences étaient de race parisienne et donnaient à l'inoculation de la tum. Jensen seule une proportion de 20 0/0 de succès, proportion obtenue ici, malgré l'inoculation simultanée et positive de la tum. B. La sensibilité individuelle de chaque souris s'est donc manifestée vis-à-vis des deux tumeurs, comme si chacune d'elles lui avait été uniquement inoculée.

D'autre part, chaque tumeur se développe comme si elle était seule ; elle n'est nullement influencée par la croissance de la tumeur voisine.

RÉINOCULATIONS CHEZ DES SOURIS PORTANT DES TUMEURS EXPÉRIMENTALES

D'après les expériences rapportées par Ehrlich[1], les souris portant une tumeur ne pourraient être réinoculées avec succès : les réinoculations positives seraient tout à fait exceptionnelles et cette sorte de résistance vis-à-vis d'une deuxième inoculation serait due à l'absence de la substance X indispensable au développement de la tumeur ; toute la substance X aurait été utilisée par la première tumeur. L'absence de cette substance constitue « l'*immunité athrepsique* ». Cette immunité serait d'autant plus forte que la première tumeur serait plus virulente.

Bashford, au contraire[2], réinocule avec succès à une souris, sa propre tumeur, alors que les inoculations à des souris neuves ne donnent que des insuccès ou une proportion infime de résultats positifs. Un tel résultat n'est pas absolument opposé à l'hypothèse d'Ehrlich, puisque la tumeur se montre *avirulente* pour les souris neuves et que l'immunité, d'après Ehrlich, est proportionnelle à la virulence de la tumeur existante ; ces cas de réinoculations positives pourraient constituer les exceptions admises par Ehrlich.

1. Ehrlich, Experimentelle karcinomstudien an Maüsen, *Arb. a. d. k. Inst. f. exp. Therapie zuFrankfurt a. M.*, *f.* 1, 1906.
2. E. F. Bashford, IV th. annual report of the Imperial cancer, *Research Fund.* 1906.

Nos résultats sont bien différents : des souris portant déjà une tumeur expérimentale peuvent prendre une seconde tumeur de même type ou de type différent.

Ainsi, des souris portant des tumeurs Jensen ont pu être inoculées avec succès avec la tumeur B.

D'autre part, des souris portant des tumeurs B ont pu reprendre cette même tumeur et la proportion de cas positifs a été, dans certaines expériences, de 100 0/0, alors que des souris neuves ne fournissaient que 80 0/0 de tumeurs.

Exp. 1 : 10 souris portant des tumeurs B à marche très lente, datant de plus de 3 mois, sont inoculées avec un fragment de tumeur B, du côté opposé à la première tumeur :

Résultat : 10 nouvelles tumeurs sur 10 souris.
8 — — — 10 témoins.

Exp. 2 : 4 souris, portant des tumeurs de 36 jours, sont inoculées en même temps que les deux lots ci-dessus : les 4 souris prennent de nouvelles tumeurs.

Ces résultats tiennent-ils à la faible virulence de la première tumeur? Non, car dans l'expérience 2, par exemple, les 4 souris portaient des tumeurs d'une inoculation pratiquée le 4 janvier 1906, qui avait fourni 70 0/0 de cas positifs.

La proportion de succès dans ces réinoculations n'est pas toujours aussi élevée, mais de l'ensemble de nos expériences, on peut conclure que *les souris portant déjà une tumeur sont au moins aussi sensibles que les souris neuves à une inoculation nouvelle.*

Voici, d'ailleurs, le résultat d'ensemble des expériences de réinoculation de tumeur du même type B :

42 souris réinoculées donnent 24 nouvelles tumeurs, soit 57 0/0
88 — inoculées comme témoins 41 tumeurs. — 47 0/0

Il faut signaler à part une expérience où la tumeur réinoculée s'est montrée particulièrement peu virulente chez les souris neuves :

4 souris portant des tumeurs de 65 jours, et 6 souris portant des tumeurs de 30 jours, sont réinoculées le 27 décembre 1906, en même temps que 13 témoins.

Résultat : sur les	4 souris du	1er lot,	2 nouvelles tumeurs		50 0/0
—	6 —	2e —	3 —	—	50 0/0
—	13 —	témoins	1 tumeur		8 0/0

Toutes les expériences de cette série sont en contradiction avec conception d'Ehrlich, et de telles divergences entre ses

résultats et les nôtres ne semblent pouvoir être expliquées que par le mode différent de l'inoculation. Ce que nous avons déjà dit sur le rôle de la quantité de tissu injecté s'applique ici :

Nous employons un simple fragment qui, introduit sous la peau d'une souris, s'organise, sans qu'il y ait résorption d'une quantité appréciable de tissu : par conséquent, pas d'anticorps; Ehrlich injecte du tissu broyé, représentant plusieurs fois le fragment inoculé au trocart ; supposons le broyage constitué par un nombre plus ou moins grand de petits morceaux de tissu, de groupes cellulaires, nous pouvons admettre que la tumeur qui se développera n'aura pour point de départ qu'un seul ou qu'un petit nombre de ces groupes : tous les autres seront résorbés et pourront donner naissance, au bout de quelques jours, à un anticorps cytolytique ; cet anticorps sera impuissant vis-à-vis de la tumeur déjà formée, mais s'opposera au développement d'une nouvelle tumeur, en cas de réinoculation.

Nous pouvons ainsi résumer les conséquences de l'inoculation par l'une et l'autre méthodes :

Inoculation d'un fragment.	1° L'inoculation est négative : petite quantité de tissu résorbé : faible formation d'anticorps.	Immunité peu appréciable.
	2° L'inoculation est positive : pas de tissu résorbé ; pas de formation d'anticorps.	Pas d'immunité.
Inoculation de broyage.	L'inoculation est négative ou positive.	Tissu résorbé : anticorps : immunité.

L'âge de la 1re tumeur a-t-il une influence sur le succès de la réinoculation comme Sticker [1] l'a constaté avec le sarcome du chien ? Nous ne le pensons pas, en ce qui concerne le cancer des souris ; des souris portant des tumeurs de différents âges ont marqué vis-à-vis d'une même réinoculation une sensibilité égale.

DURÉE DE L'IMMUNITÉ

Pour juger de la durée de l'immunité conférée par les différents moyens de vaccination décrits ci-dessus, ou simplement par des inoculations négatives antérieures, nous avons inoculé à nouveau, le 16 avril 1907 :

1° Des souris vaccinées par les différentes méthodes (tissu

1. STICKER, *Soc. med. int.*, Berlin, avril 1907.

cancéreux frais, desséché ou chauffé, tissus normaux) en octobre et novembre 1906;

2° Des souris inoculées sans succès, à différentes époques;

3° Des souris neuves, comme témoins.

Résultat :

1er *lot* :	3	souris vaccinées	par le tissu	cancéreux sec ;		0 tumeur.
	3	—	—	—	broyage de tumeur fraîche :	1 —
	5	—	—	—	— de tumeur chauffé :	0 —

Soit 1 tumeur sur 11 souris vaccinées *depuis plus de cinq mois*, au moyen d'injections de tissu cancéreux : 9 0/0.

8 souris vaccinées par des tissus normaux (rate et foie) donnent 3 tumeurs : 37,5 0/0. Ces tumeurs évoluent très lentement et n'atteignent, au bout de trois mois, que le volume d'une noisette.

2e *lot* : 45 souris n'ayant pas pris de tumeurs à des inoculations pratiquées en octobre, novembre ou décembre 1905, donnent 13 tumeurs : 29 0/0. (La proportion est sensiblement la même chez les souris inoculées en décembre que chez celles qui ont été inoculées en octobre ou novembre.)

3e *lot* : 8 souris neuves donnent 7 tumeurs, soit 87,5 0/0.

On peut conclure de cette expérience que l'immunité acquise peut durer cinq mois et plus.

ESSAIS DE SÉROTHÉRAPIE

Les essais ont été faits : 1° avec le sérum d'un mouton ayant subi des injections de tissu cancéreux frais; 2° avec du sérum de poule préparé de la même façon : 3° avec les sérums normaux de ces deux espèces.

Sérothérapie préventive. — *Sérum de mouton.* — Le mouton a reçu, au moment des premières expériences (mai 1906), 60 grammes environ de tissu cancéreux frais, en 7 injections sous-cutanées espacées de 3 à 4 semaines ; la saignée a été pratiquée 15 jours après la dernière injection.

Deux lots de souris furent traités : l'un par 2 c. c. de sérum préparé, l'autre par 2 c. c. de sérum normal, en injections sous la peau du dos. Toutes les souris traitées et un lot de souris neuves furent inoculées le lendemain, avec la tumeur B. P. Résultats : Souris traitées par sérum spécifique : 8 tumeurs sur 8 souris — 100 0/0.

Souris traitées par sérum normal : 8 tumeurs sur 9 souris — 89 0/0.

Souris neuves témoins : 16 tumeurs sur 20 souris — 80 0/0.

Une deuxième expérience, faite en décembre 1906, ne donne pas de meilleurs résultats, quoique le mouton ait reçu, à cette époque, plus de 100 grammes de tissu cancéreux en 13 injections ;

Souris traitées par sérum spécifique :		83 0/0	de tumeur.
— — —	sérum normal :	60 0/0	—
— témoins		46 0/0	—

Sérum de poule. — La poule qui a fourni le sérum spécifique a reçu 14 grammes de tissu cancéreux en 3 injections ; elle a été saignée 15 jours après la dernière.

Le 14 mars 1907, 5 souris reçoivent, sous la peau du dos, 1/4 c. c. de sérum spécifique : 5 souris reçoivent la même dose de sérum normal.

Le 16, les 10 souris sont inoculées avec la tumeur B, en même temps que 10 souris témoins.

Résultat : sur 5 souris traitées par le sérum spécifique ; 4 tumeurs : 80 0/0.

Sur 5 souris traitées par le sérum normal 5 tumeurs : 100 0/0.

Sur 9 souris témoins, 9 tumeurs : 100 0/0.

Ces résultats ne sont pas encourageants ; il est même remarquable que les animaux traités par le sérum spécifique de mouton aient donné une plus forte proportion de tumeurs que les témoins. Nous ne chercherons pas à expliquer ce fait, mais nous pensons qu'il y aurait avantage, dans de telles expériences, à n'employer qu'une quantité faible de sérum et à pratiquer l'injection préventive deux jours au moins avant l'inoculation d'épreuve. Il est possible enfin que l'injection d'une quantité plus grande de tissu cancéreux aux animaux fournisseurs de sérum donne de meilleurs résultats et que le choix de ces animaux joue un certain rôle.

Sérothérapie curative. — Au point de vue curatif, les sérums spécifiques n'ont pas donné de résultats appréciables ; mais il faut reconnaître que l'évolution des tumeurs expérimentales est si rapide, qu'il faudrait un sérum particulièrement actif pour être capable de l'enrayer ou de la retarder. La sérothérapie curative ne peut être étudiée qu'avec des tumeurs à marche suffisamment lente.

In vitro, nous n'avons constaté aucune action cytolytique de ces sérums.

En terminant cet exposé, nous devons mentionner des expériences de traitement curatif au moyen d'injections de macération de tumeur fraîche :

Chaque souris recevait, à des intervalles de 10 à 15 jours, 1/2 c. c. de macération épaisse.

Un certain nombre de souris sont mortes dans les jours qui suivirent la première injection; d'autres ont supporté jusqu'à quatre injections.

Les résultats obtenus n'ont pas été concluants: cependant, une souris traitée par trois injections a résorbé sa tumeur qui était, au début du traitement, de la grosseur d'un pois. Ce fait peut être signalé, les cas de résorption d'une tumeur du type B étant excessivement rares.

CONCLUSIONS

1° L'immunité contre le cancer expérimental des souris n'est pas une immunité anticancéreuse proprement dite; elle n'est pas spécifique : elle peut être conférée par des injections de tissu cancéreux ou par injections de certains tissus normaux de souris;

2° A proportions égales, les injections de tissu cancéreux donnent une immunité plus active que les injections de tissus normaux (rate exceptée);

3° L'immunité obtenue est proportionnelle à la quantité de tissu injecté.

TOXICITÉ DES SÉRUMS THÉRAPEUTIQUES

SA VARIABILITÉ ET SON DOSAGE [1]

PAR LE Dr BESREDKA

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.

Un sérum peut posséder de grandes qualités thérapeutiques, être préparé dans les meilleures conditions possibles; cela n'empêche que, dans certains cas, son emploi puisse donner naissance à des troubles sérieux et même inquiétants. Ces troubles, qui n'ont rien à voir avec la présence de l'anticorps spécifique et qui relèvent uniquement des matières contenues dans tout sérum de cheval, offrent chez l'homme un ensemble très caractéristique. Chez les animaux, on ne sait pas encore reproduire les mêmes symptômes, surtout au moyen d'une seule injection; en revanche, on peut préparer les animaux, notamment des cobayes, de façon à déterminer chez eux des troubles beaucoup plus graves et la mort en quelques minutes.

Malgré cette différence, tout porte à croire que dans les deux cas, chez l'homme et le cobaye, les accidents sériques sont régis par le même mécanisme. Il importe donc d'en tenir compte et d'instituer pour tout sérum employé à titre thérapeutique, à côté du dosage du pouvoir antitoxique, aussi celui de son pouvoir toxique.

Comment faire ce dosage?

Dans un travail [2] fait en collaboration avec E. Steinhardt, nous avons constaté le fait suivant : les cobayes qui avaient servi au dosage du sérum antidiphtérique ou qui avaient reçu sous la peau une fraction (1/100-1/200 c. c.) de sérum de cheval quelconque, réagissent d'une manière extrêmement vive à toute nouvelle injection de sérum, lorsque celui-ci est porté, 12 jours plus tard, directement dans le cerveau. Ce sont précisément ces cobayes « sensibilisés » qui constituent un réactif de la plus haute sensibilité lorsqu'il s'agit d'évaluer la toxicité d'un sérum.

L'expérience nous a montré, en effet, que ces cobayes, quoique sensibilisés dans des conditions égales, se montrent inéga-

1. Voir la note préliminaire dans les *Compt. rend. Soc. Biol.*, 16 mars 1907

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 févr. 1907, p. 117-127.

lement susceptibles vis-à-vis de sérums de différentes origines et que, pour le même sérum, l'intensité de la réaction est en raison directe de la dose injectée dans le cerveau.

Pour nous faire une idée des différences de toxicité que peuvent présenter des sérums, nous en avons fait venir un grand nombre, tant normaux que thérapeutiques, de Russie (Saint-Pétersbourg, Odessa, Kharkoff, Kieff), d'Allemagne, d'Angleterre, de Belgique, de Suisse, d'Autriche, d'Amérique du Nord et du Sud, de Roumanie et de Turquie.

Les doses de sérum injecté variaient de 1/4 à 1/160 c. c.; quel que fût la quantité de sérum, nous faisions la dilution de telle sorte que la totalité de liquide injecté dans le cerveau fût toujours égale à 1/4 c. c. Le nombre d'échantillons examinés a été de près de 60. Nous ferons grâce aux lecteurs des chiffres, sauf de quelques-uns qui seront rapportés plus bas; nous essayerons surtout d'en dégager des conclusions générales.

*
* *

Tant que nous nous bornions à injecter sous la dure-mère de chaque sérum 1/4 c. c., il nous fut impossible de noter aucune différence d'un sérum à l'autre. Sauf de très rares exceptions, à cette dose de 1/4 c. c., tous les échantillons, quels qu'en fussent le pays d'origine, la nature et l'âge, tuaient le cobaye en 2-3 minutes, et s'ils ne tuaient pas, ils ne manquaient jamais de provoquer des troubles anaphylactiques des plus graves.

Ce n'est que lorsque nous avons diminué progressivement les doses, que nous avons pu faire ressortir les différences individuelles entre divers échantillons de sérum; nous avons pu nous assurer alors que rien n'était plus facile que de constituer pour chaque sérum, d'une façon très précise, sa fiche de toxicité.

En compulsant ces fiches, dont nous avons dressé plusieurs pour chaque sérum, nous sommes arrivés à conclure que si d'un sérum à l'autre il y a parfois des différences de toxicité considérables, cela tient au moins à deux facteurs : d'une part, il y a lieu de tenir compte de l'âge du sérum et, d'autre part, des propriétés individuelles qui relèvent probablement de la race des chevaux, de leur nourriture et de la manière de récolter le sérum.

Nous avons vu que l'addition de liquides conservateurs, tels

que acide phénique, tricrésyl, chloroforme, n'exerce aucune influence sur la toxicité du sérum.

Il n'en est pas de même du chauffage que, dans certains Instituts, on fait subir aux sérums ; nous en reparlerons longuement ailleurs ; ici disons seulement que les sérums chauffés sont sensiblement moins toxiques que les non chauffés. Mais ce qui nous intéresse en ce moment, c'est la toxicité propre des sérums avant qu'ils n'aient subi aucune modification.

* * *

Des deux facteurs de toxicité que nous venons de signaler, celui qui relève de l'âge du sérum n'est important que tant que le sérum est relativement jeune. Après un mois et demi ou deux mois, au maximum, ce facteur devient négligeable et c'est la toxicité individuelle seule qui entre en jeu.

Or, si l'on éprouve des sérums à ce moment-là, c'est-à-dire après deux mois de séjour *in vitro*, on constate que, à la dose de 1/20 c. c. et même de 1/16 c. c., la plupart d'entre eux sont bien supportés par des cobayes sensibilisés.

Nous avons eu cependant entre les mains un assez grand nombre de sérums qui tuaient à la dose de 1/16 c. c., puis d'autres encore — peu nombreux, il est vrai — qui se montraient meurtriers à des doses de 1/32 et 1/64 c. c. : ces derniers donnaient encore lieu à des troubles anaphylactiques dans des dilutions plus grandes (jusqu'à 1/160 c. c.).

Les causes de cette toxicité nous échappent ; ce qu'il faut savoir c'est qu'elle existe ; il est utile d'en être prévenu pour chercher à y porter remède.

* * *

L'autre facteur de toxicité, celui qui est fonction de l'âge du sérum peut, par contre, être analysé de très près. Nous l'avons étudié sur les chevaux de l'Institut Pasteur chez lesquels nous avons pu éliminer, autant que possible, toutes les influences étrangères. Ainsi, les chevaux choisis pour ces expériences étaient tous dans les mêmes conditions : tous de même origine, soumis au même régime alimentaire, puis vaccinés et saignés toujours de la même façon et en même temps.

Malgré cette égalité des conditions, on a pu surprendre de temps à autre des différences de toxicité d'un cheval à l'autre ;

ces écarts individuels s'observaient cependant rarement; de plus, ils se traduisaient par des chiffres qui variaient, tout au plus, du simple au double, lors de fortes dilutions des sérums.

Quelques chiffres tirés des cahiers d'expériences pourront nous indiquer la toxicité des sérums jeunes, ainsi que les caractères de décroissance de la toxicité, suivant le temps qui s'est écoulé depuis la saignée.

Après 10 heures (depuis la saignée) :

Exp. 1. — 1/64 c. c. : troubles légers.
1/32 c. c. : symptômes d'anaphylaxie; mort.
Exp. 2. — 1/64 c. c. : malaise.
1/32 c. c. : mort.
Exp. 3. — 1/64 c. c. : malaise.
1/32 c. c. : symptômes d'anaphylaxie; se rétablit à la longue.

Après 11 jours :

Exp. 1. — 1/32 c. c. : symptômes d'anaphylaxie graves.
1/16 c. c. : mort.
Exp. 2. — 1/32 c. c. : symptômes graves.
1/16 c. c. : mort.
Exp. 3. — 1/32 c. c. : symptômes d'anaphylaxie.
1/16 c. c. : Idem.
Exp. 4. — 1/32 c. c. : mort.
1/16 c. c. : Id.

Après 45 jours :

Exp. 1. — 1/16 c. c. : symptômes d'anaphylaxie graves.

Exp. 2. — 1/16 c. c. : symptômes d'anaphylaxie très graves; agonie durant 2 heures; mort.

Après 115 jours

Exp. 1. — 1/16 c. c. : symptômes d'anaphylaxie.
1/8 c. c. : mort.
Exp. 2. — 1/16 c. c. : pas de symptômes appréciables.
1/8 c. c. : mort.
Exp. 3. — 1/12 c. c. : symptômes d'anaphylaxie graves; longue agonie; finit par se rétablir.

Après 13 mois 1/2 :

Exp. 1. — 1/16 c. c. : symptômes d'anaphylaxie.
1/8 c. c. : symptômes très graves; finit par se remettre.

Exp. 2. — 1/16 c. c. : symptômes d'anaphylaxie.
1/8 c. c. : Idem.

1/4 c. c. symptômes très violents; agonie pendant 1 h. 1/2; se rétablit.

Après 13 ans :

Exp. 1. — 1/8 c. c. : symptômes d'anaphylaxie.
1/4 c. c. : mort.

* * *

Ces chiffres montrent que, malgré quelques écarts individuels, faibles d'ailleurs, la toxicité des sérums, à peu près égale au départ, décroît d'une façon assez régulière. Très toxique le jour de la saignée (dose mortelle = 1/32 c. c.), le sérum perd rapidement de toxicité dans les dix premiers jours qui la suivent; ainsi, vers le onzième jour, elle est déjà diminuée de deux fois (dose mortelle = 1/16 c. c.). Puis, elle continue à décroître pendant un mois ou un mois et demi, mais cette fois-ci lentement, de sorte que, 45 jours après la saignée, le sérum détermine encore à la même dose (1/16 c. c.) des troubles anaphylactiques très graves, sans amener cependant nécessairement la mort.

Passé le délai de deux mois, la toxicité du sérum se maintient pendant des mois au même niveau (dose mortelle = 1/8 c. c.); elle s'atténue probablement encore avec le temps, mais d'une façon à peine appréciable : tous nos sérums âgés de plus de deux mois présentaient la même toxicité (1/8 c. c.); ce qui est certain, c'est que la toxicité ne disparaît jamais complètement, car dans un échantillon de sérum antidiphtérique qui a été conservé par M. Roux pendant 13 ans, nous avons trouvé la dose mortelle égale à 1/4 c. c.

Ajoutons que la substance qui fait déclancher les troubles anaphylactiques chez un cobaye sensibilisé, se trouve uniquement dans le sérum : le sang de cheval, défibriné et lavé, puis dissous dans l'eau distillée, ne détermine aucun trouble.

* * *

Sans que l'on soit encore autorisé à considérer comme équivalentes la toxicité d'un sérum pour un cobaye sensibilisé et celle pour l'homme, il n'en est pas moins vrai que l'usage des sérums toxiques est à éviter dans la thérapeutique humaine.

Les expériences qui précèdent montrent qu'en n'employant que des sérums âgés d'au moins deux mois, on sera sûr d'avoir

éliminé un des principaux facteurs de la toxicité. Les autres facteurs nous sont encore inconnus, mais ce que nous pouvons, c'est dire chaque fois si un sérum est toxique ou non, et quel est le degré de cette toxicité.

D'après les règlements élaborés à l'Institut sérothérapique de Francfort, tout sérum thérapeutique doit satisfaire aux quatre conditions suivantes[1] : 1° il doit être limpide et ne pas contenir de gros dépôt ; 2° il ne doit pas contenir de microbes ; 3° il ne doit pas contenir plus de 0,5 0/0 de phénol ; 4° il ne doit pas contenir de toxine libre, notamment de toxine tétanique.

Attendu qu'il est facile maintenant de doser la toxicité des sérums, nous croyons qu'il serait utile d'ajouter aux quatre conditions précédentes une cinquième, ainsi conçue : 5° un sérum thérapeuthique ne doit pas dépasser la toxicité moyenne propre à la majorité des sérums ; nous sommes d'avis qu'un sérum capable de tuer un cobaye sensibilisé ou de provoquer chez lui des troubles très graves à la dose de 1/20 ou même 1/16 c. c. et, à plus forte raison, au-dessous de 1/20 c. c., est à considérer comme ayant une toxicité au-dessus de la moyenne et comme tel ne doit pas être admis à l'usage.

Quant à la technique de ce dosage, elle est d'une très grande simplicité : l'injection intracérébrale demande tout au plus une minute ; de plus, ce dosage n'entraîne aucune dépense, les animaux ayant servi au dosage de sérum antidiphtérique pouvant très bien convenir à cet effet.

CONCLUSIONS

La toxicité des sérums thérapeutiques peut être dosée au moyen d'injections intracérébrales à des cobayes sensibilisés.

Ces dosages montrent qu'il existe toute une gamme de toxicité pour des sérums de provenance différente, la dose mortelle pouvant varier de 1/4 c. c. à 1/128 c. c. Cette toxicité est propre au sérum et non aux éléments figurés du sang.

Les sérums des chevaux, vivant dans des conditions semblables, sont de toxicité sensiblement la même ; les écarts individuels sont rares et de peu d'importance.

La toxicité variable des sérums paraît liée, en premier lieu, au lieu d'origine et, en deuxième lieu, à leur âge.

1. OTTO, *Die staatliche Prüfung der Heilsera*, Iena, 1906.

Hypertoxique le jour de la saignée, les sérums perdent peu à peu de leur toxicité; cette baisse, rapide au début, se ralentit à partir du dixième jour.

Tout sérum thérapeutique, pris tel quel, doit être considéré comme toxique pendant deux mois à partir du jour de la saignée.

D'une manière générale, tout sérum qui provoque des phénomènes anaphylactiques graves à la dose de 1/16-1/20 c. c. et *a fortiori* au-dessous de cette dose, doit être considéré comme toxique.

La technique du dosage par la voie intracérébrale est simple, rapide et pas coûteuse.

Contribution à l'étude de la culture de "Treponema pallidum"

PAR MM. C. LEVADITI ET J. Mc INTOSH (DE ABERDEEN).

Avec les Pl. XIX et XX.

(Travail du laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.)

Les nombreuses tentatives faites pour cultiver les diverses espèces de spirochètes pathogènes ou saprophytes sont restées, pour la plupart, totalement infructueuses. On considérait la culture de ces micro-organismes comme extrêmement difficile sinon impossible, lorsque, en 1906, l'un de nous eut l'idée d'employer le procédé des sacs en collodion qui avait rendu de si grands services en bactériologie. Grâce à ce procédé, Levaditi [1] réussit à cultiver non seulement le *Spirochaeta gallinarum*, mais aussi le *Sp. Duttoni* et le *Sp. refringens* de Schaudinn et Hoffmann. Il montra que ces parasites peuvent se multiplier pour ainsi dire à l'infini, sans montrer d'autres formes que celles en spirale; de plus, on constata qu'après un très grand nombre de passages la virulence de ces microbes s'atténue sensiblement. Peu après la publication de ces recherches, Mühlens et Hartmann [2] annoncèrent qu'il était possible d'obtenir des cultures pures du *Spirochaeta dentium*, saprophite fréquent de la cavité buccale, en se servant de la technique recommandée par Ellermann [3] pour la culture *in vitro* du bacille fusiforme de Vincent (mélange de gélose et de sérum de cheval, méthode de Veillon). Enfin, tout récemment, Novy et Knapp [4] confirmèrent les constatations de Levaditi et obtinrent des cultures pures du *Sp. Obermeyeri* en sacs de collodion placés dans la cavité péritonéale du rat.

Ces données montrent que, quoique entourée de certaines difficultés techniques, la culture des spirochètes n'est cependant pas impossible. Il était donc tout indiqué d'appliquer les mêmes procédés à la culture du *Treponema pallidum*, agent pathogène de la syphilis. Au cours des deux dernières années,

1. LEVADITI. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 14 mai 1906.
2. MÜHLENS ET HARTMANN, *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. LV, 1906, p. 81.
3. ELLERMANN, *Centralbl. für Bakt. Orig.*, vol. XXXVII.
4. NOVY ET KNAPP, *Journ. of the Americ. Med. Assoc.*, 1906, p. 2152.

l'un de nous a fait de nombreuses tentatives dans cette voie, mais aucune n'a été suivie de résultats encourageants. Ni dans le tube à essai, ni dans les sacs en collodion placés dans le péritoine des lapins, les tréponèmes des lésions de la syphilis acquise ou héréditaire n'ont montré la moindre tendance à se multiplier. La question était au même point où l'avaient laissée les essais infructueux de Bertarelli et Volpino [1] et de Souza [2], lorsque, en mai 1907, nous eûmes l'idée de placer les sacs en collodion ensemencés avec des tréponèmes vivants, non plus dans la cavité péritonéale du lapin, mais dans le péritoine du singe. Grâce à cette modification de technique, il nous a été possible d'obtenir des cultures abondantes, quoique impures, d'un spirochète ayant la plus grande ressemblance avec le *Treponema pallidum*, et dont il ne diffère que par l'absence de pouvoir pathogène. Voici les détails de nos constatations :

Le 11 mai 1907, on sacrifie un *Macacus Rhesus* n° 37, porteur de syphilomes primaires aux deux arcades sourcilières. L'animal avait été inoculé le 20 mars avec du suc d'un chancre humain datant de 15 jours, riche en tréponèmes; les premiers signes locaux apparurent après une incubation de 17 jours. Actuellement, il présente de petites papules peu ulcérées, couvertes de croûtes grisâtres et légèrement confluentes. Les tréponèmes, assez rares sur frottis, se montrent de beaucoup plus nombreux sur coupes traitées à l'argent. Ces coupes offrent d'ailleurs les altérations caractéristiques du chancre syphilitique.

Après avoir lavé les lésions sourcilières avec de l'eau salée isotonique stérile, on enlève les croûtes et on racle légèrement la surface de ces lésions. On laisse s'écouler quelques gouttes de suc mélangé à du sang, et on recueille la lymphe qui suinte bientôt après. Cette lymphe ainsi que le suc des ganglions lymphatiques sous-maxillaires sont ensemencés dans deux sacs en collodion contenant du sérum humain préalablement chauffé à 60 degrés. Les tubes de verre sur lesquels les sacs sont ajustés sont fermés à la flamme et placés dans le péritoine d'un *Macacus cynomolgus* [3]; l'animal est en même temps inoculé par scarification aux deux arcades sourcilières, avec du suc du chancre du *Rhesus* 37.

1. Bertarelli et Volpino, *Centralbl. für Bakter. Orig.*, vol. XL, fasc. 1, 1905, p. 56.
2. Souza et Pereira, *Berl. klin. Woch.*, 1900, n° 44.
3. La technique opératoire est des plus simples. Après chloroformisation et asepsie, on pratique une boutonnière sur la ligne médiane de l'abdomen, au niveau de l'ombilic, et on incise les muscles et le péritoine. On place les sacs dans les parties latérales de la cavité et on pratique la suture en deux plans. Nous tenons à remercier chaleureusement M. le Dr Pozerski qui a bien voulu se charger de cette opération.

Le macaque opéré n'a montré aucun trouble général ni local jusqu'au 3 juin 1907. A ce moment, c'est-à-dire 23 jours après l'inoculation du virus, l'animal présenta deux lésions syphilitiques commençantes au niveau des arcades sourcilières, dans le suc desquelles on décela de rares tréponèmes. Partant de l'idée que le développement des spirochètes dans les sacs placés dans le péritoine doit exiger un temps égal à celui de la pullullation de ces parasites au niveau de la peau, on jugea opportun de sacrifier l'animal au moment même où l'accident cutané était devenu nettement apparent. C'est ce qui fut fait le 3 juin.

A l'ouverture du péritoine, on constate que les deux sacs sont emprisonnés dans une poche formée par l'épiploon en partie adhérent à la paroi abdominale. Cette poche contient du pus consistant, ayant une odeur de putréfaction. Un des sacs, mieux conservé que l'autre, renferme environ 1 c. c. d'un liquide trouble, légèrement grisâtre, riche en éléments microbiens. L'examen microscopique de ce liquide révèle la présence d'un très grand nombre de spirochètes qui, observés à l'état vivant ou après coloration au Giemsa ou au violet de gentiane, offrent la plus grande ressemblance avec le *Treponema pallidum*.

Aussi, il nous a été possible de réaliser une première culture du tréponème en puisant le matériel d'ensemencement dans un accident primaire du Rhesus et en plaçant nos sacs en collodion dans le péritoine d'un *Macacus cynomolgus*. Dans la suite, nous eûmes soin de faire des passages successifs de cette première culture, d'étudier les caractères morphologiques et biologiques de notre microbe, ainsi que sa virulence, et de le purifier autant que possible.

Nous avons constaté tout d'abord qu'il est extrêmement facile de réaliser de nombreux passages en plaçant les sacs dans la cavité péritonéale du *lapin*. La seule difficulté provient de ce que ces sacs, sous la pression des gaz qui se développent à la suite de la pullulation des anaérobies, se perforent[1]. Il s'ensuit une péritonite aiguë qui emporte les animaux avant que le tréponème réussisse à se multiplier. On peut d'ailleurs éviter cet écueil en ayant soin de se servir de sacs épais et très résistants. Mais, si rien ne vient compliquer l'expérience, on obtient des cultures extrêmement abondantes en tréponèmes dans des sacs ayant séjourné de 4 à 5 jours dans le péritoine du lapin. A l'ouverture de ces sacs, on se trouve en présence d'un liquide épais, crémeux, ayant la consistance des crachats et dont la couleur est légèrement grisâtre. Ce liquide, dont l'odeur

1. Nous avons constaté que les tréponèmes peuvent pulluler dans la poche purulente qui se forme autour des sacs perforés.

rappelle celle des matières protéiques en putréfaction, est très riche en tréponèmes vivants et mobiles, et de plus contient une flore microbienne assez variée.

En procédant de la façon qui vient d'être indiquée, nous avons pu réaliser jusqu'à présent 12 passages et nous avons ensemencé avec succès 59 sacs dans un intervalle de 74 jours. Malgré la dilution progressive du matériel virulent, les dernières cultures se sont montrées plus riches en tréponèmes que les premières; cela tient au fait que les parasites se sont acclimatés de plus en plus à l'organisme du lapin[1]. Nous continuons actuellement à pratiquer des ensemencements à des intervalles plus espacés qu'au début de nos recherches (de 10 en 10 jours) et tout porte à croire que la culture pourra ainsi être prolongée à l'infini.

Le microbe de Schaudinn est accompagné dans nos sacs par plusieurs espèces de bactéries dont quelques-unes ont pu être isolées. Parmi ces bactéries, une seule espèce se développe en milieu aérobie (gélose inclinée et bouillon). C'est un streptocoque identique au *Str. pyogenes*. Les autres microbes sont strictement anaérobies et ne pullulent que dans la gélose sucrée, en tubes de Veillon ; ce sont un coccus très fin, producteur de gaz, et deux espèces de bacilles dont une seule est douée de mobilité. Ces bactéries ne paraissent pas s'opposer au développement du tréponème. Au contraire, leur présence semble favoriser ce développement, les microbes étrangers étant capables de modifier la constitution chimique du milieu, qu'ils rendent plus assimilable. Tous nos essais d'isolement sont en effet restés infructueux[2]. Chaque fois que nous avons dilué préalablement le matériel d'ensemencement, afin de diminuer le nombre des bactéries étrangères et d'isoler le tréponème, nous n'avons obtenu aucun développement de ce dernier. L'introduction d'un grand nombre de microbes anaérobies, en assurant leur multiplication rapide et une modification profonde du milieu, est une des conditions qui favorise le mieux la culture du tréponème en sac de collodion.

Ajoutons que nous nous sommes heurtés à des difficultés insurmontables lorsque nous avons essayé d'obtenir des

1. On peut employer comme milieu de culture le sérum humain ou le sérum de lapin et de cheval, chauffés à 60°.

2. Ayant essayé d'isoler le tréponème par filtration à travers des bougies Berkefeld amincies, nous avons constaté que le microbe ne traverse pas ces filtres.

cultures *in vitro*. Si dans les premiers tubes de sérum ensemencés et conservés à la température de la chambre ou à 38°, on constate une multiplication certaine des tréponèmes, par contre, dans les cultures ultérieures, on n'obtient que la pullulation des parasites étrangers. Les échanges, qui, dans la cavité péritonéale, s'opèrent entre le contenu du sac et le milieu ambiant, paraissent être une *conditio sine qua non* du développement du tréponème.

***

Voici les caractères morphologiques et biologiques des spirochètes cultivés par nous :

Examen à l'état frais. — Nos recherches ont été faites avec le microscope ordinaire et à l'aide de l'ultra-microscope de Reichert. Examiné à l'état frais, le spirochète apparaît comme un filament spiralé extrêmement mince et peu réfringent. A l'ultra-microscope, ses ondulations sont très régulières, profondes, et il est impossible de différencier notre microbe d'un tréponème typique puisé directement dans des manifestations syphilitiques.

Les *mouvements* sont les mêmes que ceux du parasite de Schaudinn et Hoffmann. Notre tréponème montre en effet des mouvements lents de rotation autour de l'axe longitudinal; il se déplace en avant ou en arrière avec une certaine vivacité et offre en plus des mouvements pendulaires ou ondulatoires. Ce sont là les caractères de la mobilité des formes typiques de notre tréponème (formes pourvues de 8 à 12 spires serrées et régulières). Mais en plus, nous avons rencontré des spirochètes d'habitude plus longs, offrant des mouvements d'une vivacité inacoutumée et dont les tours de spires paraissaient au premier abord plus larges et moins réguliers que ceux des tréponèmes de la syphilis. Un examen approfondi montrait cependant que ces parasites ne différaient en rien des tréponèmes, sitôt qu'ils étaient en état de repos. Nous avons constaté, en effet, que des spirochètes doués de mouvements lents et de spires serrées et égales pouvaient, à un moment donné, montrer une mobilité plus accentuée, à caractères ondulatoires ; cette mobilité s'accompagnait alors de la formation d'ondes espacées, simulant des tours de spires larges et irréguliers. Les spirochètes reprenaient d'ailleurs leur aspect habituel dès que cette mobilité vive était remplacée par des mouvements plus lents.

Tout comme le *Treponema pallidum*, notre parasite ne perd

pas sa forme spirallée lorsqu'il cesse de se mouvoir. On sait, depuis les recherches de Schaudinn et Hoffmann et de Prowazek, que c'est là un des caractères principaux de ce tréponème; seul le *Spirochaeta dentium* offre cette particularité, les autres spirochètes ayant une tendance manifeste à devenir rectilignes dès qu'ils sont au repos.

Quant à la durée de la mobilité de notre tréponème *in vitro*, elle varie suivant que le parasite est conservé à la température de la chambre ou à 38° degrés. Gardé à l'étuve anaérobiquement, dans des tubes scellés à la flamme, le parasite cesse de se mouvoir déjà au bout de deux jours. Par contre, à la température du laboratoire et dans les mêmes conditions de conservation, notre microbe montre encore quelques mouvements à peine ébauchés, pendant 6 à 7 jours. Il se rapproche donc, à ce point de vue, du *Treponema pallidum* dont la mobilité est, d'après les nouvelles recherches de Landsteiner et Mucha[1], d'assez courte durée. Ces auteurs ont montré que contrairement aux affirmations de Hoffmann et de Beer[2], le microbe de la syphilis, gardé entre lame et lamelle, s'immobilise déjà au bout de deux jours, et que la température du thermostat suspend rapidement sa motilité. Ajoutons que, d'après nos constatations, les conditions de vie anaérobie semblent influencer favorablement la vitalité de notre tréponème, ce qui est conforme aux données publiées par Hoffmann et Beer.

Les *réactions colorantes* de notre spirochète peuvent se résumer ainsi :

Par le procédé de Giemsa ou par celui de Marino, le tréponème des cultures se colore en violet rougeâtre, tout comme le spirochète de la syphilis. Son affinité pour les matières colorantes est tout aussi peu accentuée que celle de ce spirochète. En effet, il ne fixe l'azur qu'après un contact de plusieurs heures avec la solution faible de Giemsa et ne se colore par le violet de gentiane que si on chauffe légèrement les préparations. Le meilleur procédé rapide pour teindre le parasite est celui de Löffler (col. des cils), recommandé d'ailleurs par Borrel et Burnet[3]

1. Landsteiner et Mucha, *Centralbl. fur Bakt. Orig*, vol. XXXIX, 1907, n° 17/19.
2. Beer, *Deutsche med. Woch.*, 1906, n° 30, p. 1192.
3. Borrel et Burnet, *C. R. de la Société de Biolog.*, 1906, séance du 27 janvier, page 212.

pour la coloration du tréponème des lésions syphilitiques. On obtient de très belles préparations si on a soin de diluer préalablement la culture avec de l'eau distillée, de fixer à l'acool ou à la flamme et de mordancer deux fois. Les tréponèmes apparaissent alors colorés en rouge brillant sur un fond clair (v. Pl. XX. fig. 2 à 11.)

Ajoutons que l'emploi des procédés à l'argent pur ou combiné à la pyridine nous a permis de colorer notre spirochète sur coupes[1].

Les *dimensions* du spirille des cultures se rapprochent sensiblement de celles du *Treponema pallidum*. Son épaisseur, difficile à mesurer, varie entre 1/3 et 1/2 μ; sa longueur est de minimum 3,5 μ et de maximum 15,5 μ, en moyenne 9 μ. Quant à sa forme, elle ne saurait être distinguée de celle des tréponèmes typiques. Notre spirochète, extrêmement mince, montre des *ondulations* serrées, régulières et assez profondes. Le nombre des tours de spires est variable. A part les tréponèmes exceptionnellement courts, à 2 ou 3 ondulations, et des parasites démesurément longs ayant plus de 20 spirales, la plupart de nos spirochètes possèdent de 8 à 10 tours de spires. La profondeur des ondulations, quoique légèrement moins accentuée que celle du pallida, s'en rapproche beaucoup. La disposition en tire-bouchon est des plus apparentes.

Quant aux caractères des *extrémités*, ils varient suivant le procédé de coloration. Sur les préparations traitées au Giemsa ou au Marino, ces extrémités se terminent en pointe et sont effilées, comme celles du tréponème de Schaudinn (v. Pl. XX, fig. 20 et 21). Par contre, sur les frottis colorés au Löffler, il est fréquent de déceler des parasites terminés d'une façon abrupte. Cette disposition se rencontre d'ailleurs assez souvent chez les tréponèmes typiques colorés par la méthode à l'encre de fuchsine.

Nous avons recherché si notre spirochète possède des *cils* terminaux ou péritriches, et nous nous sommes adressés pour cela au procédé de Löffler et à celui de Van Ermengen. Grâce à l'emploi du premier de ces procédés, nous avons réussi à mettre en évidence l'existence d'un seul prolongement filiforme situé à l'une des extrémités du parasite (v. Pl. XIX, fig. 2; Pl. XX,

1. Pour ce faire, nous avons injecté dans le foie des rats quelques gouttes de la culture et nous avons fixé les pièces sitôt après l'injection.

fig. 14, 16). Ce prolongement ressemble aux formations analogues décrites par Borrel [1] chez le tréponème de Schaudinn. Il s'agit de filaments très fins et pâles, implantés au milieu ou sur les côtés de l'extrémité du parasite, et dessinant 3 ou 4 ondulations dont l'amplitude correspond à celle des ondulations du spirochète. Jamais nous n'avons rencontré des tréponèmes pourvus de deux cils à une seule extrémité, comme cela a été vu et figuré par Schaudinn [2].

Il est difficile de préciser la nature et la signification de ces prolongements ciliformes. Etant donné que nos cultures en sacs sont impures, rien ne nous assure que tous les parasites spiralés qui s'y rencontrent appartiennent à une seule et même espèce et qu'ils doivent être identifiés sans exception avec le *Treponema pallidum*. Aussi sommes-nous dans l'impossibilité d'affirmer que les spirochètes possédant un seul cil terminal sont réellement des *pallida*.

Le tréponème des cultures se multiplie par *division transversale*. S'il nous a été impossible de découvrir des formes pouvant plaider en faveur d'une segmentation longitudinale, par contre nous avons fréquemment rencontré deux spirochètes attachés par une de leurs extrémités et réunis par une partie plus mince et légèrement effilée (v. Pl. XIX, fig. 4; Pl. XX, fig. 23, 24). Cette disposition ressemble à celle qu'on a souvent constatée chez le *Sp. gallinarum* et le *Sp. Duttoni*.

Avant de clore la description de notre tréponème, nous désirons attirer l'attention sur certaines formes particulières rencontrées dans nos cultures. Il s'agit de *spirochètes enroulés sur eux-mêmes*, disposés en boucles et qui existent fréquemment dans les sacs ayant séjourné longtemps dans le péritoine du lapin. Cette disposition a été constatée chez le tréponème de la syphilis et a été décrite tout dernièrement encore par Prowazek [3], qui la considère comme un *stade de dépression* dans le cycle évolutif de ce tréponème. Pour nous, ces formes représentent tout simplement un état d'involution ou de dégénérescence précédant la mort du parasite. L'un de nous en

1. Borrel, *C. R. de la Société de Biologie*, vol. XL, 1906, p. 138.

2. Shaudinn, *Deutsche med. Woch.*, 1905, n° 42.

3. Prowazek, *Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*, vol. XXVI, fasc. 1. 1907 p. 29.

collaboration avec Manouélian[1], a déjà exposé autre part dans ces *Annales*, les arguments qui plaident en faveur de cette interprétation.

De plus, nous avons décelé particulièrement dans les cultures conservées un certain temps *in vitro*, la présence de parasites spirillés pourvus d'ondulations de beaucoup plus larges que celles des tréponèmes typiques et contenant une ou plusieurs vacuoles claires limitées par le double contour du périplaste (v. pl. XX, p. 25-26). Les rapports qui existent entre ces formes et le tréponème de Schaudinn n'ont pas été précisés jusqu'à présent.

*
* *

Ces constatations montrent l'existence d'une étroite ressemblance entre le spirochète cultivé par nous et le *Treponema pallidum*. Les exemplaires les plus typiques sont impossibles à différencier de ce tréponème, tant au point de vue de leur forme, de leurs dimensions et de la disposition de leurs tours de spire, qu'au point de vue des affinités colorantes. Les individus moins caractéristiques s'écartent sensiblement des pallida typiques. Mais on sait que même parmi les tréponèmes des lésions syphilitiques, on rencontre des exemplaires dont les ondulations sont moins régulières et qui sont sensiblement plus courts ou plus longs que les formes considérées comme caractéristiques. Si cette variabilité paraît plus accentuée chez nos parasites, cela s'explique par le fait qu'il s'agit de cultures, par conséquent de microorganismes soumis à des conditions de vie différentes de celles que le tréponème rencontre dans l'organisme de l'homme ou du singe.

A ne considérer que les caractères morphologiques et les affinités colorantes, on doit donc rapprocher le spirochète cultivé par nous du *Treponema pallidum*. En effet, le seul spirille qui montre certaines affinités avec notre parasite est le *Spirochaeta dentium*[2] cultivé par Mühlens et Hartmann (*loc. cit.*) et étudié par Hoffmann et Prowazek[3]. Or, si l'on se rapporte aux descriptions de ce microbe saprophite de la cavité buccale, et

1. Levaditi et Manouélian, ces *Annales*, 1907, vol. XXI, p. 295.
2. Nous éliminons le *Sp. pallidula* du *pian*, dont il ne saurait être question ici.
3. Hoffmann et Prowazek, *Centralbl. fur Bakt.*, vol. XLI, 1906, fasc. 7, page 74.

si l'on tient compte de nos propres constatations, on doit le séparer nettement du tréponème des cultures. En effet, le *Sp. dentium* est non seulement plus épais, plus irrégulièrement ondulé et moins flexible que ce tréponème, mais, de plus, il se colore plus facilement et d'une façon sensiblement différente de ce dernier. D'ailleurs, on ne saisit pas comment ce microbe saprophite de la bouche aurait pu infecter des sacs placés dans la cavité péritonéale du singe, le *Sp. dentium* n'ayant jamais été constaté, à notre connaissance, dans les lésions syphilitiques cutanées des cathariniens, lésions qui ont servi de point de départ à nos cultures. Ajoutons qu'il nous a été impossible de cultiver en sacs de collodion le *Sp. dentium* de la salive du *M. cynomolgus*.

Afin de serrer de plus près la question de la parenté entre notre tréponème et celui de la syphilis, nous avons examiné le *pouvoir pathogène* de nos cultures et les *réactions agglutinantes*. Pour ce qui concerne le premier point, nous avons constaté que l'inoculation de notre microbe, par scarification cutanée, pratiquée à deux *Macacus cynomolgus* et à un chimpanzé, n'a été suivie d'aucune manifestation syphilitique locale. Les animaux ayant été soumis à l'observation pendant un temps très long (71 et 88 jours pour les macaques et 42 jours pour le chimpanzé), on peut conclure que le *tréponème des cultures est complètement dépourvu de virulence* [1]. Ajoutons que l'inoculation de ce tréponème dans la cornée du lapin est également restée sans effet [2].

Pour ce qui a trait à l'agglutination, nous avons constaté tout d'abord que le sérum des lapins ayant reçu, en injection sous-cutanée, des cultures riches en tréponèmes et préalablement chauffées à 60°, agglutinait assez bien ces tréponèmes (dilution au 1/10e, 15 minutes de contact à 37°). Cependant, le même sérum s'est montré incapable de provoquer l'agglutination des spirochètes de Shaudinn contenus dans une émulsion de foie d'un hérédo-syphilitique, dont la nécropsie fut pratiquée vingt-quatre heures après la mort.

1. Dans deux expériences faites sur le *cynomolgus*, l'inoculation (par scarification) de nos cultures n'a conféré aucune immunité aux animaux vis-à-vis d'une infection ultérieure avec du matériel syphilitique d'origine humaine.

2. Les animaux ont souvent présenté une kératite et une panophtalmie banales, dues à l'infection par les microbes secondaires.

Ces constatations semblent, au premier abord, être en contradiction avec l'hypothèse de l'identité entre notre tréponème et celui de la syphilis. Leur juste interprétation montre pourtant que cette contradiction n'est que superficielle. En effet, on s'explique fort bien l'atténuation des tréponèmes de Schaudinn cultivés en sacs, si l'on pense qu'il s'agit d'un microbe dont la fragilité est extrême et si l'on tient compte du fait que nos cultures ont eu comme point de départ un chancre de singe, c'est-à-dire une lésion dont les spirochètes étaient très probablement en voie d'atténuation (Metchnikoff et Roux).

De plus, les recherches de Levaditi ont montré que même pour ce qui concerne le *Sp. gallinarum*, microorganisme dont la virulence est de beaucoup plus constante que celle du *pallida*, la culture en sac entraîne une atténuation appréciable de l'activité pathogène du virus. Enfin, la perte de ce pouvoir pathogène peut également s'expliquer par ce que notre tréponème se développe en association avec des anaérobies saprophites, anaérobies qui, tout en facilitant sa pullulation, peuvent amoindrir ou même annihiler sa virulence.

Quant à l'impossibilité d'agglutiner les spirochètes de l'hérédo-syphilis par un sérum actif vis-à-vis de notre tréponème, c'est là un phénomène qui n'étonne nullement, si l'on tient compte des considérations suivantes : tout d'abord l'agglutination a été pratiquée avec des spirochètes recueillis sur le cadavre, complètement immobiles et même altérés dans leur forme; la sensibilité de ces spirochètes vis-à-vis des principes agglutinants a pu donc être, de par ce fait, annulée. Ensuite, on sait actuellement, depuis les recherches de Landsteiner et Mucha (*loc. cit.*) que le *Treponema pallidum* ne se laisse agglutiner ni par le sérum des malades atteints d'une syphilis plus ou moins ancienne, ni par celui des lapins ayant reçu sous la peau des produits syphilitiques. Enfin, comme nous l'a suggéré M. le professeur Flexner, auquel nous avons exposé nos recherches, il se peut que les tréponèmes puisés directement dans l'organisme de l'homme ou du singe soient devenus inagglutinables, contrairement aux tréponèmes des cultures. Ce serait là un fait ayant des analogies avec l'inagglutinabilité des bacilles typhiques recueillis directement dans le péritoine du cobaye, révélée par Bail et d'autres auteurs.

En somme, et tout en tenant compte des restrictions imposées par l'impossibilité de pousser plus loin l'analyse des caractères vitaux du microbe cultivé par nous, nous pensons qu'au point de vue morphologique, tinctorial et même biologique, notre tréponème doit être rapproché du *Treponema pallidum*. *Le spirochète obtenu en cultures sériées constitue une variété avirulente du parasite de la syphilis, la perte de son activité pathogène étant due aux nouvelles conditions de vie de ce microorganisme et à l'impureté des cultures.*

1er septembre 1907.

LÉGENDE DES PLANCHES

PLANCHE XIX

Microphotogrammes.

Fig. 1. — Frottis de foie d'enfant hérédo-syphilitique. Coloration par le procédé de Löffler. Deux tréponèmes pâles.

Fig. 2. — Spir. de culture. Col. au Löffler. Forme courte, pourvue d'un cil terminal.

Fig. 3. — *Même culture*, même coloration. Au centre un amas de tréponèmes. A comparer le spirochète situé vers le bord gauche de la préparation avec le tréponème représenté dans la figure 1.

Fig. 4. — *Même culture*, même coloration. Stade de division transversale du tréponème.

PLANCHE XX

Dessins à la chambre claire, objectif apochromatique à immersion de Zeis ; occulaire compensateur 12 ; longueur du tube, 16.

Fig. 1. — *Treponema pallidum* (frottis de foie hérédo-syphilitique), forme relativement courte, coloration faible au Löffler.

Fig. 2. — *Treponema pallidum* (frottis de foie hérédo-syphilitique), forme longue, coloration par le procédé de Löffler.

Fig. 3. — Tréponème de culture, forme longue (à comparer avec la figure 2).

Fig. 4 et 6. — Tréponème de culture, à extrémités effilées.

Fig. 5. — Tréponème de culture : une seule extrémité est effilée.

Fig. 7. — Tréponème de culture à extrémités arrondies.

Fig. 8. — Tréponème de culture ayant 12 ondulations et des extrémités arrondies.

Fig. 9. — Tréponème de culture, forme courte à 2 ondulations.

Fig. 10. — *Idem*, à 3 ondulations.

Fig. 11. — Tréponème de culture, à ondulations larges, ayant un prolongement ciliaire à une extrémité.

Fig. 12. — Tréponème de culture, ayant 9 ondulations régulières et serrées, et les extrémités pointues.

Fig. 13. — Forme plus courte, à extrémités effilées.

Fig. **14.** — Spirochète de culture, ayant un cil allongé à une extrémité, l'autre étant arrondie.

Fig. 15. — Spirochète de culture, à 23 ondulations très serrées et pourvu d'un long cil.

Fig. 16-19. — Cils du spirochète des cultures.

Fig. 20. — Tréponème de culture, coloré au Giemsa.

Fig. 21. — *Idem*, coloré au Marino.

Fig. 22. — *Idem*, coloré au violet de gentiane.

Fig. 23-24. — Division transversale du tréponème des cultures.

Fig. 25-26. — Formes à larges ondulations et à vacuoles.

Fig. 27. — Forme type de la même préparation.

Fig. 28. — Agglutination spontanée des tréponèmes de culture.

Fig. 29. — Culture de 9 jours, col. au Loffler.

Action de l'extrait de sclérostomes sur le sang de cheval

PAR M. WEINBERG

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Nous avons récemment communiqué à la Société de Biologie [1] le résultat d'une partie de nos recherches sur une hématoxine que nous avons trouvée dans l'extrait de sclérostomes. Ces recherches ont été complétées par un grand nombre d'expériences qui nous ont permis de confirmer les premiers faits et de découvrir d'autres propriétés de l'extrait des helminthes en question.

Les nombreux rapports qui nous semblent exister entre la sclérostomiase du cheval et l'ankylostomiase de l'homme augmentent l'intérêt des ces expériences, car nous avons la persuasion que l'étude de la première de ces affections sera d'un précieux secours pour l'étude de l'ankylostomiase humaine.

Voici résumés brièvement les résultats de nos expériences.

I. — *Propriétés hématoxiques de l'extrait de sclérostomes.*

L'extrait de sclérostomes dissout les globules rouges de cheval. Pour constater ce fait, il faut suivre la technique suivante.

On recueille immédiatement, après l'abatage du cheval, des sclérostomes vivants, fixés encore sur la muqueuse du cæcum.

Au début de nos recherches, nous prenions toutes les espèces de sclérostomes que nous rencontrions dans le gros intestin du cheval. Actuellement, nous nous servons surtout des gros spécimens du *Sclerostomum equinum*.

Les vers sont lavés plusieurs fois dans l'eau salée à 7,5/1000 et triturés dans un mortier avec une quantité d'eau physiologique égale à leur poids.

La bouillie ainsi obtenue est jetée sur un filtre ordinaire. Le liquide filtré est d'un gris sale légèrement rougeâtre. Il vaut encore mieux centrifuger cette bouillie pendant 40 minutes environ. On obtient de cette façon beaucoup plus d'extrait.

1. Sur une hématoxine d'origine vermineuse, *C. R. de la Société de Biologie*, séance du 6 juillet 1907.

On ajoute 1, 3 ou 5 gouttes de cet extrait à 10 gouttes de sang de cheval dilué dans de l'eau salée (dans la proportion de 1/20). Ce sang est au préalable défibriné et lavé, par centrifugation, deux ou trois fois dans l'eau salée.

Les tubes contenant le mélange de sang de cheval et d'extrait de sclérostomes sont placés à l'étuve à 37 degrés et sont secoués, pendant quelques secondes, toutes les demi-heures.

Au bout de deux heures, on constate déjà souvent, dans le mélange contenant 5 gouttes d'extrait, une hémolyse complète des globules rouges.

Les tubes sont placés pour la nuit à la glacière. Le lendemain matin, tous les tubes, même ceux qui ne contiennent qu'une seule goutte d'extrait, montrent une hémolyse sinon complète, du moins très marquée.

La présence de l'hématoxine dans l'extrait des clérostomes est donc indiscutable (nous avons répété cette expérience 32 fois); elle varie d'intensité, mais elle existe toujours.

Pour nous convaincre que cette substance vient de l'helminthe et non des microbes qu'on trouve en nombre considérable sur son corps, nous avons fait des recherches parallèles avec le contenu filtré du gros intestin du cheval. Nous n'avons jamais obtenu d'hémolyse avec ce produit.

D'autre part, le contenu intestinal des sclérostomes, prélevé directement au moyen d'une pipette effilée, présente les mêmes propriétés hémolysantes que l'extrait de vers.

Cette hématoxine est thermostabile; chauffée pendant une demi-heure et plus à 56-60 degrés, elle conserve ses propriétés. Celles-ci ne sont pas complètement détruites à 100 degrés, à 115 et même à 120 degrés; l'action hémolytique est alors seulement affaiblie et ralentie.

Passé à travers le filtre Chamberland, l'extrait perd ses propriétés; il les conserve parfois après filtration sur bougie Berkefeld.

Nous avons également recherché si cette hématoxine est spécifique. Elle ne l'est pas; elle dissout également les hématies du lapin, du cobaye, du bœuf et du mouton. Elle détruit à peine les globules rouges de l'homme.

Nous avons préparé la poudre avec les sclérostomes desséchés dans le vide. Cette poudre est d'un gris clair et d'une odeur

caractéristique très prononcée. Une petite quantité de cette poudre (15 à 20 centigr.), ajoutée à 10-20 gouttes de sang lavé, dissout les globules rouges très rapidement, parfois en moins d'une heure.

L'extrait éthéré de la poudre de sclérostomes possède également cette propriété de dissoudre les globules rouges.

Pour obtenir l'extrait éthéré, on agite 10 à 15 minutes le mélange de 25 centigrammes de poudre des clérostomes et 10 c.c. d'éther sulfurique. On laisse ce mélange toute une nuit; le lendemain on l'agite quelques minutes, on filtre et le liquide obtenu est évaporé au bain-marie. A la suite de cette opération, il reste au fond du tube une petite masse jaunâtre collée au verre.

On laisse ces tubes pour quelques heures à l'étuve de façon à ce que toute trace d'éther ait disparu.

On verse 10 à 20 gouttes de sang de cheval lavé dans ce tube, on décolle avec une pipette l'extrait fixé au verre et on agite quelques instants le mélange. Le sang est en général hémolysé après 1-2 heures, même à la température de la chambre. Parfois l'hémolyse s'opère beaucoup plus rapidement.

Nous avons également pratiqué deux expériences avec l'extrait alcoolique. Ce dernier n'a pas dissous les globules rouges de cheval.

II. — *Action comparée des extraits de différentes parties de sclérostomes.*

Pour étudier l'action comparée des différentes parties du sclérostome, il faut procéder de la façon suivante.

On choisit les plus gros spécimens du *Sclerostomum equinum*, on sépare la tête et on coupe la partie terminale de l'extrémité caudale. Dans ces conditions, il n'est pas difficile de retirer du corps de ce parasite son intestin qui se présente sous forme d'un tube d'un rouge noir.

Cette expérience est très minutieuse; nous l'avons répétée trois fois.

Nous avons fait séparément des extraits de têtes, d'intestins et d'enveloppes du parasite avec ou sans organes génitaux.

Dans la première expérience 71 têtes de sclérostomes ont été triturées avec 3 c. c. d'eau physiologique; les intestins et les corps correspondants ont été triturés dans la même quantité d'eau.

Dans la deuxième et troisième expériences, nous avons trituré 100 têtes dans 4 c. c. d'eau physiologique. Il en fut de même pour les autres parties de parasites.

Ces expériences ont montré que l'extrait de têtes hémolyse le sang beaucoup plus rapidement que celui d'intestins. Dans la première expérience, nous avons obtenu une légère hémolyse avec l'extrait de corps. Ce résultat a tenu à ce que nous n'avons pas bien débarrassé l'enveloppe de vers du tube digestif.

Dans les expériences suivantes, où nous n'avons employé que les enveloppes d'helminthese omplètement débarrassées de leurs tubes digestifs, nous n'avons pas constaté d'hémolyse.

Ces expériences montrent que c'est surtout la partie céphalique du ver qui contient la substance toxique. L'intestin en sécrète aussi, mais moins.

D'autre part, ayant appris que l'extrait de têtes a les mêmes propriétés que celui de parasites entiers, nous avons remplacé, dans nos expériences ultérieures, le deuxième liquide par le premier, et cela avec un grand avantage, car l'extrait de tête est clair et donne très peu de dépôt lorsqu'il est chauffé.

III. — *L'extrait de sclérostomes empêche la coagulation du sang de cheval.*

On sait que l'extrait de sangsues empêche la coagulation du sang. D'autre part, Loeb et Smith[1] ont montré que l'extrait d'ankylostomes du chien exerce une certaine action empêchante sur la coagulation du sang de cet animal.

Nous avons fait une série d'expériences, pour rechercher si

1. Leo Loeb et A.-J. Smith, Ueber eine die Blutgerinnung hemmende Substanz in Anchylostoma caninum, *Centralblatt f. Bakt., Parasitenkunde, etc. Originale*, 1904, p. 93-98.

Leo Loeb, Ein weiterer Versuch über die Blutgerinnung hemmende Substanz in Ankylolostoma caninum, *Centralblatt f. Bakt. und Paras. Originale*, 1906, p. 740-41.

l'extrait de sclérostomes possède les mêmes propriétés vis-à-vis du sang de cheval.

1re *Expérience.* — On recueille dans 5 tubes à essai, contenant chacun 1 c. c. d'extrait de sclérostomes, 1 c. c. de sang de cheval. Cette expérience est faite au moment de l'abatage du cheval; le sang est recueilli à la jugulaire, lorsque le jet se ralentit.

Le sang témoin coagule en 3 minutes. Le sang mélangé à de l'extrait reste incoagulé.

2e *Expérience.* — Cinq tubes contenant 2 c. c. d'extrait reçoivent chacun 6 c. c. de sang. Le sang témoin coagule en 12 minutes; le sang traité avec l'extrait reste incoagulé.

3e *Expérience.* — On recueille 1 c. c. de sang de cheval dans chacun des 3 tubes contenant 1 c. c. d'extrait de têtes de sclérostomes. Dans deux autres tubes contenant également 1 c. c. du même extrait, on ajoute 1 c. c. de sang.

Le sang témoin coagule en 17 minutes, le sang traité reste incoagulé.

4e *Expérience.* — 5 tubes contenant 1 c. c., 1/2 c. c., 3/10 de 1 c. c., 2/10 de 1 c. c., 1/10 de 1 c. c. d'extrait de têtes reçoivent chacun 1 c. c. de sang.

Le sang témoin coagule en 17 minutes, les mélanges de sang et d'extrait restent incoagulés.

5e *Expérience.* — Dans un tube contenant 1 c. c. d'extrait de têtes de sclérostomes, on recueille 4 c. c. de sang; dans un autre contenant 1 seule goutte du même extrait, on recueille 1 c. c. 1/2 de sang.

Le sang témoin coagule en 15 minutes; les mélanges restent incoagulables.

6e *Expérience.* — On recueille 2 c. c. de sang dans un tube contenant 1 c. c. d'extrait de *larves* de sclérostomes.

Le sang témoin coagule en 15 minutes; le mélange de sang et d'extrait reste incoagulé.

Tous les tubes contenant le mélange de sang et d'extrait ont été placés au bout d'une heure à la glacière. Tous ces mélanges sont restés incoagulés, même après 4 jours.

Les résultats de ces expériences sont très nets : elles montrent que les sclérostomes sécrètent une substance

toxique ayant la propriété d'empêcher la coagulation du sang de cheval. Cette substance est très active, puisque dans une de nos expériences 1 seule goutte d'extrait de tête a rendu incoagulable 1 c. c. 1/2 de sang.

Il est à noter que l'extrait de larves du même parasite possède également cette propriété.

IV. — *Propriétés de l'extrait.*

Nous avons fait deux séries d'expériences pour rechercher si l'extrait de sclérostomes a une action quelconque vis-à-vis du sérum de cheval.

Le sérum de cheval auquel on a ajouté 1 à 5 gouttes d'extrait devient trouble et laisse, le lendemain, un dépôt assez marqué. Il était difficile de tirer une conclusion de ces expériences.

Ayant trouvé que l'extrait de têtes a les mêmes propriétés que l'extrait d'individus entiers, nous avons répété nos expériences avec le premier liquide.

Les expériences pratiquées avec l'extrait de têtes ont donné des résultats très nets.

Le sérum de 9 différents chevaux traité par cet extrait (2, 6, 10 gouttes pour 20 gouttes de sérum) a donné le lendemain un précipité très caractéristique.

L'extrait dont nous nous sommes servi dans cette expérience était très légèrement alcalin. Une alcalinisation forte de cet extrait n'a pas donné lieu à la formation d'un dépôt quelconque.

Cet extrait précipite également le sérum de lapin; il a une action beaucoup moins marquée pour le sérum de cobaye.

V. — *Action de l'extrait de larves de sclérostomes.*

Les larves de sclérostomes pénètrent dans le courant circulatoire, se fixent sur le paroi de l'aorte et des grosses artères, ou bien vont se loger sous le péritoine abdominal ou sous la plèvre.

Il était donc important de connaître si les larves, elles aussi, sont capables de sécréter des produits toxiques. En effet, si les larves sécrètent des toxines, celles-ci son absorbées par l'organisme du cheval, et, comme ces parasites

larvaires sont parfois en nombre considérable, elles peuvent amener des troubles très sérieux.

Les larves sont recueillies dans les nodules sous-péritonéaux, lavées deux ou trois fois dans l'eau salée et triturées avec une quantité d'eau physiologique égale à leur poids.

3 séries d'expériences ont été instituées avec l'extrait simple ; nous avons toujours obtenu une légère hémolyse dans les mélanges de 5 gouttes d'extrait pour 10 gouttes de sang.

Une quatrième série d'expériences a été faite avec l'extrait de têtes de larves. 73 têtes de larves ont été triturées dans 3 c. c. d'eau physiologique. L'extrait ainsi obtenu a donné une légère hémolyse comme l'extrait de larves entières.

Nous avons vu plus haut que l'extrait de larves a aussi une action empêchante sur la coagulation du sang.

VI. — *Action empêchante du sérum de cheval.*

Nous avons recherché si le sérum de cheval empêche l'action de l'extrait de sclérostomes sur les globules rouges. Dans ce but, nous avons pratiqué de nombreuses expériences avec 2 échantillons de sérum.

Le sérum de cheval n'empêche pas l'hémolyse des globules rouges par l'extrait simple ni par l'extrait chauffé à 56°. Par contre, il a une action très nette sur l'extrait bouilli ou stérilisé à 115°. Dans ces expériences, nous avons ajouté aux globules rouges autant de gouttes d'extrait (1, 3, 5 gouttes) que de sérum.

Le sérum chauffé (à 56° pendant 1/2 heure) possède une action empêchante un peu plus prononcée ; son action se manifeste déjà vis-à-vis de l'extrait chauffé à 56°.

Les globules rouges soumis à l'action combinée de l'extrait et du sérum chauffé à 56° montrent une hémolyse moins marquée que lorsqu'on les traite par le mélange d'extrait non chauffé et de sérum chauffé.

Le sérum de lapin chauffé empêche également l'action de l'extrait de sclérostomes bouilli ou stérilisé, mais d'une façon beaucoup moins marquée que le sérum de cheval.

Il en est de même pour le sérum de cobaye.

VII. — *Étude des extraits d'autres vers instestinaux.*

Il était intéressant d'établir si les extraits d'autres helminthes qu'on trouve souvent dans l'intestin du cheval possèdent les mêmes propriétés.

Nous avons porté nos recherches sur l'oxyure, l'ascaride et les ténias.

a) *Oxyuris equi. Expérience 1.* — 2 grammes d'oxyures sont triturés avec 2 c. c. d'eau physiologique. On verse 1, 3, 5 gouttes d'extrait dans les tubes contenant chacun 10 gouttes de sang lavé. Le sang n'est pas hémolysé même au bout d'une nuit passée à la glacière.

Expérience 2. — 12 grammes d'oxyures sont triturés avec 12 c. c. d'eau physiologique. On prépare 5 séries de 4 tubes avec du sang lavé ; on ajoute 1, 3, 5 et 10 gouttes d'extrait. Pas d'hémolyse.

Expérience 3. — Le même résultat négatif a été obtenu dans la troisième série d'expériences où nous avons ajouté au sang lavé 1, 3, 5 gouttes d'extrait ;

b) *Ascaris megalocephala.* — Nous avons pratiqué 7 expériences avec l'extrait d'ascarides provenant de l'intestin grêle de différents chevaux.

Dans les 3 premières expériences nous avons obtenu une légère hémolyse dans les tubes où 10 gouttes de sang ont été mélangées à 10 gouttes d'extrait.

Nous avons répété ces expériences après avoir débarrassé les parasites en question du contenu intestinal du cheval, en les soumettant aux 3 lavages successifs dans l'eau physiologique.

Les quatre nouvelles séries d'expériences ont donné des résultats négatifs.

Comme l'intestin d'ascaride contient en général une certaine quantité de liquide, nous avons broyé ces parasites sans y ajouter d'eau physiologique. La bouillie obtenue était centrifugée tantôt immédiatement, tantôt après quelques heures de séjour à la glacière ;

c) *Tænia perfoliata.* — Les ténias de cette espèce, qu'on trouve souvent en grand nombre dans le cæcum du cheval, ont

été soigneusement lavés dans l'eau physiologique et triturés avec la quantité d'eau égale à leur poids.

Nous avons pratiqué 4 séries d'expériences. Les parasites qui nous ont servi à chaque expérience provenaient d'un cheval différent.

Les résultats de toutes nos expériences ont été négatifs. L'extrait de ces ténias n'hémolyse pas les globules rouges de cheval, même dans la proportion de 10 gouttes d'extrait pour 10 gouttes de sang ;

d) *Tænia plicata.* — Ce parasite habite l'intestin grêle du cheval. Il est assez rare. Nous en avons trouvé dernièrement un seul exemplaire qui pesait 2gr,50. Ce ver a été trituré dans 5 c.c. d'eau physiologique.

Il a été versé 2, 6, 10 gouttes de l'extrait ainsi obtenu dans 3 tubes contenant chacun 10 gouttes de sang.

Les globules rouges sont restés intacts.

CONCLUSIONS

1. L'extrait de sclérostomes du cheval possède la propriété de dissoudre les globules rouges de cet animal.

2. Cette hématoxine est sécrétée surtout par la partie céphalique du parasite, mais aussi par son tube digestif.

3. Cette hématoxine est thermostabile. Elle n'est pas complètement détruite, même chauffée à 115-120 degrés pendant 15 à 20 minutes.

4. Elle n'est pas spécifique, elle dissout en même temps les globules rouges d'autres animaux (cobaye, lapin, bœuf, mouton).

5. Les sclérostomes sécrètent également une substance ayant les propriétés de précipitines à l'égard du sérum de cheval. Cette toxine n'est pas spécifique ; elle précipite aussi le sérum de lapin.

6. L'extrait de larves de sclérostomes possède les mêmes propriétés que celui d'individus adultes, mais son action est moins marquée.

7. Le sérum de cheval empêche l'action de l'extrait bouilli ou stérilisé sur les globules rouges de cheval. Le sérum de cheval chauffé (à 56° pendant 1/2 heure) est plus actif et son

action se manifeste même vis-à-vis de l'extrait chauffé à 56°.

8. Les autres helminthes qu'on trouve dans l'intestin du cheval (*Oxyuris equi*, *Ascaris megalocephala*, *Tænia perfoliata*, *Tænia plicata*) ne sécrètent pas une hématoxine pour les globules rouges de cet équidé.

Il semble découler des expériences que nous avons relatées dans ce travail que, des divers parasites intestinaux du cheval, le seul capable de sécréter une hématoxine est aussi le seul qui se nourrit du sang de l'animal dont il est l'hôte.

Nous avons commencé des expériences en vue d'étudier l'action de ces substances sur l'organisme animal. Ces expériences seront publiées ultérieurement.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE SUR
l'association du Spirille de la Tick-fever et de divers Trypanosomes

PAR LE D[r] R. TRAUTMANN

MÉDECIN DES TROUPES COLONIALES

(Travail du laboratoire de M. Mesnil.)

Les recherches faites ces dernières années ont établi que les différents trypanosomes, sauf le *Trypan. lewisi*, sont assez facilement influencés par diverses substances chimiques : arsenicaux, couleurs de benzidine, etc.

D'autre part, il semble résulter des travaux de quelques auteurs (Nissle, Thomas et Breinl, Massaglia, Rodet et Vallet, etc.), que certaines bactéries ont une action générale (cas de septicémie microbienne) ou locale (cas d'abcès) sur les infections à trypanosomes, mais aucune étude méthodique n'en a été faite. Il est malheureusement difficile de régler l'action de ces bactéries, et surtout d'arriver à obtenir une action prolongée des microbes vivant côte à côte dans le sang avec les trypanosomes.

L'idée nous est venue de rechercher si les spirilles — dont l'évolution, chez l'organisme vivant, rappelle à tant d'égards celle des trypanosomes pathogènes — n'exerceraient pas une action analogue.

Nous nous sommes servi du spirille de la Tick-fever, qui a l'avantage de provoquer chez les animaux, et en particulier chez la souris, des affections à récurrence.

Toutes nos expériences ont été faites sous la direction de M. Mesnil, à l'Institut Pasteur.

Les premières recherches portèrent sur l'association du spirille et du *Trypan. gambiense ;* les résultats ne purent en être appréciés avec certitude, l'affection à *gambiense* étant souvent longue et très irrégulière chez la souris. Nous avons employé ensuite le trypan. de la Dourine, ceux du Surra et du Nagana.

Le Nagana (virus de passage par souris, de l'Institut Pasteur) présente l'avantage de fournir une infection rapide et

sûre; il tue régulièrement la souris, par inoculation sous la peau, en 4 jours 1/2, 5 jours, 6 jours au maximum. D'autre part, depuis le moment de leur apparition dans le sang, les trypan. y augmentent d'une façon continue, sans qu'on constate jamais la moindre régression.

Tick-fever et Nagana

Les résultats ont sensiblement différé, suivant le mode d'administration des deux virus; aussi avons-nous fait trois séries d'expériences, donnant les spirilles avant les trypan., après, ou en même temps qu'eux.

Expérience A

Le même jour et à la même heure :
Nagana sous la peau du dos } à 3 souris.
Spirilles dans le péritoine }
Nagana sous la peau du dos à 1 souris témoin.

DATES	SOURIS I		SOURIS II		SOURIS III		TÉMOIN
	Trypan.	Spirilles	Trypan.	Spirilles	Trypan.	Spirilles	Trypan.
I 6 h. soir							
1er jour	O	R	O	R	O	O	O
2e —	O	NR	O	R	O	R	O
3e —	O	N	2	N	1	N	O
4e —	3	NR	TR	TR	TR	TN	NR
5e —	4	O	1	O	+		N
6e —	TR	O	O	O			+ (5e - 6e)
7e —	O	1	2	O			
8e —	O	TR	2	1			
9e —	TR	NR	TR	O			
10e —	+		NR	O			
12e —			+				

I signifie inoculation

Note. — Pour toutes nos expériences, les abréviations employées indiquent le nombre de parasites vus dans une goutte de sang examiné à l'état frais, et ont la valeur suivante :

O : aucun parasite.
TR : un — vu toutes les 5 minutes.
R : 3-4 — vus en 2 minutes.
AR : 1 — pour 3 à 4 champs.
NR : 1-2 — par champ.
AN : 10 — environ par champ.
N : moitié moins de parasites que de globules.
TN : autant — —
EN : plus — —

L'indication + indique la mort survenue dans la journée; celle + (5e - 6e) par exemple, indique que la mort est survenue dans la nuit du 5e au 6e jour.

Le tableau ci-dessus indique la marche de la maladie chez les quatre animaux.

Le témoin est tué en 5 j. 1/2 (évolution normale du Nagana).

La mort de la souris III, survenue le 4e jour, peut, vraisemblablement, être attribuée aux spirilles, une proportion assez forte d'animaux succombant lorsque ces parasites sont très nombreux dans la circulation.

Les souris I et II ont survécu 4 j. 1/2 et 6 j. 1/2 au témoin : on constate, le 7e jour pour la souris I, le 5e pour la souris II, une diminution dans le nombre des trypan. Or, ce phénomène ne s'observe jamais quand le Nagana est inoculé seul.

D'autre part, la mort de ces deux souris est survenue sans que les trypan. se soient montrés en quantité suffisante pour que leur présence seule la justifie. Nous verrons, en effet, par la suite, que ni l'association de trypan. plus ou moins rares et de spirilles non rares, ni l'existence de trypan. non rares seuls, ne constituent, en règle générale, une cause de mort ; celle-ci n'arrive normalement qu'au moment où les trypan. sont très nombreux dans le sang.

Expérience B.

Le même jour et à la même heure :

Nagana et spirilles, en mélange, dans le péritoine à 3 souris.

Témoins. { Nagana dans le péritoine à 1 souris.
Spirilles dans le péritoine à 1 souris.

DATES	TÉMOIN à Spirilles. — Spirilles.	TÉMOIN à Nagana. — Trypan.	SOURIS I		SOURIS II		SOURIS III	
			Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.
11 h. matin. 1er jour.	NR	AN	N	R	AR	O	N	R
2e —	N	TN + (2h)	TN	AN	AN	AR	AN	NR
3e —	AN		+ (2e-3e)		TN	N	TR	N
					+ (1h)			
4e —	N						O	O
5e —	TR						2	O
6e —	O						O	O
7e —	NR						O	O
8e —	N						TR	O
9e —	AN						O	O
10e —	TR						1	O
11e —	O						1	O
12e —	O						R	O
14e —	N						N	TN
15e —	N						+ (14e-15e)	
16e —	O etc.							

Le témoin à Nagana meurt en 52 heures exactement.

Le témoin à spirilles présente une évolution normale de la maladie, avec deux crises.

Chez la souris I, où l'évolution du Nagana semble cependant plus rapide que chez le témoin, la mort arrive seulement dans la nuit du 2e au 3e jour.

Chez la souris II, on constate un retard plus marqué, puisqu'elle ne succombe qu'au bout de 74 heures.

Enfin, la souris III résiste et présente le phénomène de régression des trypan., déjà signalé chez les souris I et II de l'expérience A. Nous nous étendrons plus loin sur l'évolution anormale des spirilles chez cette souris. Elle meurt dans la nuit du 14e au 15e jour, soit un retard de 12 j. 1/2 sur la mort du témoin.

Expérience C.

Le même jour et à la même heure :
Nagana et spirilles, en mélange sous la peau à 2 souris (I et II.)
Nagana sous la peau et spirilles dans le péritoine à 2 souris (III et IV.)
Témoins { Nagana sous la peau à 1 souris.
Spirilles dans le péritoine à 1 souris.

DATES	SOURIS I		SOURIS II		SOURIS III		SOURIS IV		Témoin à Trypan.	Témoin à Spirilles
	Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp	Spir.	Tryp.	Spir.	Trypan.	Spirilles
11 h. 1/2 mat.										
1er jour.	1	TR	TR	AR	TR	AR	TR	AR	TR	NR
2e —	TR	AN	NR	TN	NR	TN	AR	N	NR	TN
3e —	NR	TN	AN	TN	AN	TN	AR	N	N	TN
4e —	AN	TN	+ (3e - 4e)		N	TN	TR	O	TN	AN
5e —	N	O			+ (4e – 5e)		O	O	+ (1 h.)	O
6e —	TR	O					O	O		+
7e —	TR	R					R	TR		
8e —	NR	AN					O	O		
9e —	AN	N					NR	O		
11e —	N	R					N	O		
12e —	NR	NR					+ (2 h.)			
13e —	+ (2 h.)									

La mort du témoin à Nagana arrive en 97 heures 1/2.

Celle des souris II et III semble devoir être rattachée surtout à la présence de très nombreux spirilles dans le sang ; celle du témoin à spirilles, à une affection banale n'ayant aucun rapport avec la spirillose.

Les souris I et IV voient leur maladie évoluer, à peu de chose près, comme celle des souris résistantes des expériences A et B.

Nous remarquerons simplement ici, pour y insister plus tard, que la souris I, présentant une évolution normale de spirilles, semble réagir moins bien aux trypan. que la souris IV, chez laquelle l'infection à spirilles se fait d'une façon anormale.

Cependant, la mort de celle-ci se produit la première, au 12e jour, soit 7 jours plus tard que celle du témoin.

La souris I meurt le 13e jour à 2 heures, sans présenter dans le sang une grande quantité de parasites, soit 8 j. 1/2 après le témoin.

Expérience D

Nagana sous la peau à 5 souris.
Le lendemain spirilles dans le péritoine à 4 d'entre elles.

DATES	SOURIS I		SOURIS II		SOURIS III		SOURIS IV		TÉMOIN
	Tryp	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Trypan.
Inoc. Nagana									
1er jour Inoc. Spirilles	0		0		0		0		0
2e jour	1	TR	0	AN	2	AR	0	R	0
3e —	4	NR	TR	AN	TR	AN	1	AN	2
			+ (3e - 4e)						
4e —	AR	AN	1	AN	NR	N	TR	TN	N
5e —	NR	0			AN	AN	NR	TN	+ (4e - 5e)
6e —	1	0			TR	0	+ (4e - 5e)		
7e —	0	0			1	0			
8e —	0	0			1	2			
9e —	3	0			AR	0			
10e —	3	2			AN	AR			
11e —	1	4			AR	NR			
13e —	4	0			0	0			
14e —	1	0			AR	0			
15e —	1	0			NR	0			
16e —	TR	AR			AN	0			
17e —	0	AR			TR	NR			
18e —	0	TR			0	0			
20e —	0	0			0	0			
21e —	0	0			3	0			
22e —	0	0			R	0			
24e —	R	0			AN	0			
25e —	AN	0			AN	0			
26e —	AN	0			AN	0			
27e —	N	0			NR	0			
28e —	N	R			R	0			
29e —	R	AR			NR	AN			
30e —	0	0			NR	0			
31e —	1	0			N	0			
32e —	2	0			TN	0			
33e —	1	0			TN	0			
34e —	NR	0			+ (33e - 34e)				
35e —	N	0							
36e —	TN	0							
	+ (36e - 37e)								

C'est ce mode d'inoculation qui nous a donné les résultats les plus satisfaisants et nous a permis de conserver 33 et 36 jours deux des souris naganées.

Le témoin meurt en 4 jours 1/2; la souris II en 3 jours 1/2, probablement de maladie intercurrente (avec très rares Trypan. et sp. assez nombreux seulement); la souris IV en 4 jours 1/2, de spirillose, vraisemblablement.

La marche de la maladie a été identique chez les souris I et III; aux mêmes époques, à peu près, Trypan. et spirilles augmentent ou diminuent chez ces deux animaux :

C'est d'abord une régression des Trypan. survenant au 6e jour chez les deux souris, suivie d'une disparition complète pendant 2 jours pour la souris I, partielle pour la souris II.

Le 9e jour, le nombre des Trypan. augmente légèrement, chez la première, sensiblement chez la seconde. Jusqu'au 16e jour, pour l'une, au 17e pour l'autre, ces parasites sont présents dans la circulation en quantité plus ou moins grande.

A ces dates, ils disparaissent une deuxième fois, et les examens de sang sont négatifs pendant 6 jours (souris I) et 2 jours (souris II).

La marche des deux infections, jusque-là parallèles, diffère alors légèrement.

Pour la souris I, les Trypan. se montrent à nouveau le 24e jour, augmentent régulièrement jusqu'au 28e, diminuent le 29e, pour tomber à 0 le 30e. Le lendemain et les deux jours suivants, l'examen décèle 1 à 2 Trypan. Le 34e jour, leur nombre augmente brusquement et la mort survient dans la nuit du 36e au 37e jour, avec une très grande quantité de Trypan. dans le sang.

Pour la souris II, dès le 21e jour, réapparition des Trypan., dont le nombre croît rapidement, pour diminuer une dernière fois le 28e jour et s'élever ensuite jusqu'à l'époque de la mort, dans la nuit du 33e au 34e jour (Trypan. très nombreux).

Si nous examinons maintenant l'infection à spirilles, nous sommes frappés de son irrégularité et de son peu d'intensité ; mais, la particularité la plus marquante est l'apparition anormale de spirilles, les 27e et 28e jours après l'infection (3e récidive).

Nous n'avons jamais observé ce phénomène chez les animaux infectés de spirilles seulement; par contre, nous l'avons relevé chez d'autres souris, inoculées de Trypanosomes et de Spirilles dans des conditions différentes.

Expérience E

Nagana sous la peau à 4 souris.
Le lendemain spirilles dans le péritoine à 3 d'entre elles.
Les 8e, 9e et 14me jours, réinoculation de spirilles à la souris II.

DATES	INOCULATIONS	SOURIS I		SOURIS II		SOURIS III		TÉMOIN
		Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Trypan.
5 h. 1/2 soir	Inoculat. Nagana peau dos.							
1er jour	Spir. dans péritoine							
2e —	aux souris I-III.	R	NR	R	AR	NR	NR	AR
3e —		AR	AN	NR	N	AN	N	AN
4e —		1	N	AR	N	TN	N	+ (3e - 4e)
5e —		1	0	AR	0	+ (1 h.)		
6e —		1	0	0	0			
7e —		0	0	TR	0			
8e —	I. Spir. pér. à II.	R	2	AR	0			
10e —	— —	NR	NR	NR	TR			
11e —		1	0	1	0			
12e —		1	0	0	0			
14e —	I. Spir. pér. à II.	AR	0	TR	0			
15e —		N	0	N	0			
16e —		N	0	1	0			
17e —		TN	0	0	0			
18e —		NR	NR	0	0			
19e —		0	0	0	0			
20e —		0	0	1	2			
21e —		4	0	2	0			
22e —		2	0	0	0			
23e —		AR	0	TR	0			
24e —		AR	0	TR	0			
25e —		AR	0	TR	0			
26e —		NR	0	NR	0			
27e —		+ (Midi)		AN	0			
28e —				AN	0			
29e —				N	0			
30e —				+ (1 h.)				

Cette expérience est en partie la répétition et la confirmation de la précédente. L'inoculation a été cette fois plus massive. Le témoin meurt en 3 jours 1/2 : la souris III en 4 jours avec des Trypan. très nombreux, malgré l'inoculation de spirilles.

Nous n'insisterons pas sur l'évolution des deux parasites, qui a eu lieu, à peu de chose près, comme dans l'expérience D.

La souris II a été inoculée à trois reprises de spirilles dans le péritoine (8e, 9e et 14e jours) et nous n'avons constaté, à la suite des réinjections, aucune modification dans la marche de la maladie. La souris I est morte le 27e jour, la souris II le 30e jour.

Expérience F

Spirilles dans le péritoine à 2 souris.
Le lendemain Nagana sous la peau à ces deux et à un témoin.

DATES	INOCULATIONS	SOURIS I		SOURIS II		TÉMOIN
		Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.
4 h. 1/2 soir.	Spirilles péritoine à souris I et II.					
Lendemain 5 h. 1/2 soir.	Nagana sous la peau aux 3 souris.					
1er jour....		0	TN	0	TN	0
2e —		0	EN	0	EN	0
3e —		0	EN	0	TN	0
4e —		+ (3e-4e.)		TR	N	NR
5e —				R	0	N
6e —				AN	0	+ (5e-6e.)
7e —				TN	0	
8e --				+ (4 h. soir.)		

Le témoin meurt dans la nuit du 5e au 6e jour après l'inoculation de Nagana.

L'abondance extrême de spirilles cause la mort de la souris I (les Trypan. n'ont pas eu le temps d'apparaître). La souris II ne dépasse pas le 8e jour et le tableau rend compte qu'il n'y a pas eu régression des Trypanosomes.

Expérience G.

Spirilles dans le péritoine à 2 souris.
Le lendemain, Nagana dans le péritoine à ces deux et à un témoin.

DATES	INOCULATIONS	SOURIS I		SOURIS II		TÉMOIN
		Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.
4 h. 1/2 soir.	Spirilles dans le péritoine à souris I et II.					
Lendemain 5 h. soir.	Nagana dans le péritoine aux trois.					
1er jour....		O	TN	O	TN	O
2e —		O	EN	I	EN	AR
3e —		TR	EN	TR	EN	N
4e —		AR	TN	AR	TN	+ (3e-4e)
5e —		AN	O	AN	O	
6e —		TN	O	N	O	
7e —		EN	O	TN	O	
8e —		+ (7e-8e)		EN	O	
9e —				+ (8e-9e)		

Comme dans l'expérience précédente, il est à remarquer que l'infection à Trypan. a suivi une marche régulièrement progressive, mais ralentie, jusqu'à la mort des deux animaux.

Il paraît donc évident, d'après les expériences précédentes, que, dans la majorité des cas, l'action des spirilles n'est pas douteuse et gêne le développement des Trypan. Quelle peut être la raison de cette action empêchante? L'immunité acquise par les souris contre les spirilles influence-t-elle les Trypan. ? Pour élucider cette question, nous avons fait l'expérience.

Expérience H.

Le même jour et à la même heure :

De 3 souris ayant acquis l'immunité pour les spirilles, l'une est inoculée de spirilles dans le péritoine (souris I) ; l'autre de spirilles dans le péritoine et de Nagana sous la peau (souris II) ; la 3e de Nagana sous la peau (souris III).

De 3 souris neuves, l'une est inoculée de spirilles dans le péritoine (souris IV) ; l'autre de Nagana sous la peau (souris V) ; la 3e de spirilles dans le péritoine et de Nagana sous la peau (souris VI).

DATES	INOCULATIONS	SOURIS I	SOURIS II		SOURIS III	SOURIS IV	SOURIS V	SOURIS VI	
		Spir.	Tryp.	Spir.	Tryp.	Spir.	Trypan.	Tryp.	Spir.
5 h. 1/4 soir	Nagana sous la peau à souris II, III, V et VI. Spirilles dans le péritoine à souris I, II, IV et VI.								
1er jour		0	0	0	0	AN	0	0	NR
2e —		0	0	0	0	N	0	0	N
								+ (2-3e)	
3e —		0	0	0	0	N	0		
4e —		0	AR	0	I	TR	AR		
5e —		0	N	0	AR	0	N		
6e —		0	TN	0	N	0	TN		
			+ (2^{H})				+ (midi)		
7e —		0			TN	0			
		etc.			+ (1^{H})				
8e —						NR			
9e —						AR			
10e —						0			
11e —						0			
12e —						0			
13e —						0			
14e —						R			
15e —						0			
						etc.			

Comme il fallait s'y attendre, les souris I et II n'ont pas réagi à la nouvelle inoculation de spirilles.

La souris IV a fait une spirillose normale.

La souris VI succombe en 2 jours 1/2, sans présenter de Trypan.

Les souris V et II meurent en 5 jours 1/2; la souris III en 6 jours 1/2 [1].

L'immunité de la souris contre les spirilles n'empêche donc pas le Nagana d'évoluer normalement chez elle.

L'expérience précédente nous montre que l'immunité des animaux contre les spirilles est insuffisante pour expliquer la disparition des Trypan. à certains moments. Il est donc permis de penser qu'il peut y avoir une action toxique des spirilles pour les Trypan. Voyons-le dans l'expérience suivante.

Expérience I.

Nagana dans le péritoine à 3 souris.

Le lendemain, inoculation d'un culot de spirilles morts dans le péritoine des deux premières.

1. — Toutes les inoculations faites à la même époque dans le laboratoire de M. Mesnil, avec le Nagana, amenèrent la mort des souris en un temps variant de 5 jours à 6 jours 1/2, c'est-à-dire avec un retard de 24 heures environ sur le temps normal.

Le culot de spirilles a été fourni par un gros rat saigné à blanc 4 jours après une inoculation de spirilles dans le péritoine, et présentant, au moment où il a été tué, des parasites nombreux dans la circulation. Le sang prélevé a été défibriné, puis centrifugé pendant 1 heure. Le culot obtenu, placé dans 1 c. c. d'eau physiologique, a été inoculé après un chauffage de 10 minutes à 56°.

L'action des spirilles morts a été nulle : le témoin est mort dans la nuit du 3e au 4e jour comme l'une des souris ; l'autre avait succombé le 3e jour à 4 heures. Les 3 animaux présentaient des Trypan. très nombreux.

***

Telles ont été les principales expériences faites. Il s'en dégage, comme fait saillant, que, dans la majorité des cas, la présence de spirilles vivants, chez une souris naganée, retarde la mort de celle-ci.

La survie des animaux nous paraît relever d'une double action exercée par les spirilles sur les Trypanosomes :

1° Une gêne apportée au développement de ces derniers;

2° Une diminution de leur virulence vis-à vis de l'animal en expérience.

La gêne apportée au développement des Trypan. est visible dans presque toutes nos expériences : nos témoins montrent, en effet, que le Nagana étant inoculé seul, les parasites mettent un temps très court pour passer de très rares à nombreux ou très nombreux. Quand, au contraire, des spirilles ont été inoculés, soit en même temps que les Trypan., soit avant ou après eux, il faut, en règle générale, un laps de temps beaucoup plus considérable pour observer dans la circulation une grande quantité de Trypan.; quelquefois même, la souris meurt sans que ceux-ci dépassent 1 à 2 par champ. (Exp. A, C, E.)

D'autre part, chez les témoins, dès que les Trypan. deviennent très nombreux, la souris meurt brusquement, et il est rare de voir un animal résister plus d'un jour, lorsqu'il présente dans son sang une grande quantité de parasites.

Or, dans plusieurs de nos expériences, des souris sont mortes après avoir présenté pendant plus de 2 jours des Trypan. très nombreux ou même excessivement nombreux. Cette constatation fait songer à une diminution de virulence de Trypan., mais il n'y a pas atténuation durable, comme nous le verrons plus loin.

Le manque de temps nous a empêché de poursuivre l'explication du phénomène.

Les deux seules expériences que nous avons faites à ce sujet (Exp. H et I) nous montrent qu'il ne faut la chercher ni dans l'immunité des animaux contre les spirilles ni dans l'action toxique des spirilles morts sur les Trypan.

Nous restons toujours en présence du même fait inexpliqué, mais qui n'en est pas moins intéressant, c'est qu'une affection agit nettement sur l'autre. Chaque nouvelle poussée de spirilles, chez nos souris à longue survie, semble coïncider avec une régression du Trypan.

C'est sans doute à cette régression périodique qu'il faut attribuer le retard survenu dans la mort, peut-être parce que, à chaque nouvelle reprise, la souris se trouve dans des conditions de défense équivalentes à celle où elle se trouvait au moment de la première infection.

En tout cas, ce n'est pas à une atténuation vraie de virulence du Trypan. qu'il faut l'attribuer : les expériences suivantes le prouvent.

Une souris neuve est inoculée avec du Nagana provenant de la souris III de l'expérience D ; elle meurt en 4 jours 1/2.

La veille de sa mort, il lui est fait un prise de sang qui est inoculé à une souris neuve ; celle-ci succombe également en 4 jours 1/2.

Avec cette dernière souris, au 4e jour de l'infection, un troisième animal inoculé meurt aussi en 4 jours 1/2.

Dans ces trois cas, l'évolution du Nagana a été absolument normale.

Nous croyons pouvoir en conclure que le virus n'a subi aucune atténuation durable par le contact prolongé avec les spirilles.

Ces trypan. qui ne sont pas atténués et qui ont vécu ainsi en contact avec les spirilles, comment se comportent-ils en association avec de nouveaux spirilles chez des animaux neufs?

Pour nous en rendre compte, nous avons établi les expériences suivantes :

1. — Avec du sang provenant de la souris III, Exp. D, au 31e jour de l'infection, nous avons inoculé 3 souris, sous la peau, et, pour réaliser les mêmes conditions que dans ladite expérience D, le lendemain nous avons injecté des Spirilles dans le péritoine. Les souris réagissent toutes ainsi :

	Trypanosomes	Spirilles
2e jour	TR	NR
3e «	NR	N
4e «	N	TN
5e «	N	N.

Mort dans la nuit du 5e au 6e jour.

Les Trypan. semblent donc vaccinés contre les spirilles.

Cependant nous allons voir que, dans l'expérience suivante, une souris fait exception.

2. — Une souris neuve reçoit du sang de la même souris III, Exp. D, au 31e jour; le 4e jour de l'infection, elle sert à inoculer sous la peau 4 souris dont trois reçoivent, le lendemain, du Spirille dans le péritoine. Le tableau suivant résume la marche de l'infection.

DATES	SOURIS I		SOURIS II		SOURIS III		TÉMOIN
	Trypan.	Spirilles	Trypan.	Spirilles	Trypan.	Spirilles	Trypan.
I tryp. 5 h. ½ soir							
I Sp. 1er j. 6h.							
2e —	TR	R	R	TR	TR	TR	R
3e —	N	N	N	N	AN	TR	N
4e —	TN	TN	TN	TN	TN	N	TN
5e —	+ (4e-5e)		EN	0	EN	0	+ (4e-5e)
			+ (1 h.)				
6e —					N	0	
7e —					0	TR	
8e —					0	AN	
9e —					0	TR	
10e —					TR	TR	
11e —					NR	NR	
					A cette date, traitée par Atoxyl.		

3. — Avec le témoin de l'expérience précédente, 3 souris sont inoculées sous la peau et deux d'entre elles reçoivent, le lendemain, des spirilles dans le péritoine.

Le témoin meurt en 3 jours 1/2 avec des Trypan. nombreux.

L'une des souris succombe en 2 jours avec des Trypan. très nombreux et des spirilles rares; l'autre en 4 jours 1/2, avec des Trypan. très nombreux et des spirilles assez nombreux.

En résumé, de ces 8 souris, une seule a résisté quelque temps; chez les sept autres, les spirilles n'ont eu aucune action.

Des expériences précédentes, il découle que si les Trypan.

ont acquis, contre les produits solubles par lesquels les spirilles sont capables de les influencer, une vaccination qui persiste à travers plusieurs passages par souris, cette vaccination n'est pas constante.

Nous nous sommes jusqu'ici efforcé de montrer l'action des spirilles sur les Trypan., mais il n'est pas douteux que ces derniers exercent également une action sur les spirilles.

Ainsi, nous avons vu des animaux présenter trois récidives de spirilles, la dernière 29 jours après l'infection (souris I et III, de l'Exp. D), fait jusqu'alors inconnu dans l'infection pure à spirilles.

Nous avons aussi signalé, et nous y insistons ici, que les animaux les plus résistants de nos expériences ont généralement présenté une évolution anormale de la spirillose.

En observant attentivement tous les cas, il nous a paru que Trypan. et spirilles exercent une action réciproque les uns sur les autres, qu'ils se gênent mutuellement, qu'ils se font une sorte de concurrence vitale. Ce n'est d'ailleurs là, nous ne le dissimulons pas, qu'une constatation de fait, et non une explication du phénomène.

La manière dont les inoculations sont faites paraît avoir une grande importance ; la série de nos expériences nous montre, en effet, que :

1. — Chez les souris guéries de spirillose, le Nagana évolue sans modifications ;

2. — Chez les souris inoculées d'abord de spirilles, puis de Trypan., on ne constate pas de régression des Trypan. ; il y a seulement un léger retard dans la mort des animaux ;

3. — Chez les souris inoculées en même temps de spirilles et de Trypan., la survie est plus longue que dans le cas précédent, et les Trypan. subissent une régression ;

4. — Chez les souris inoculées d'abord de Nagana sous la peau, puis le lendemain de spirilles dans le péritoine, la survie a été la plus longue.

Tick-fever et Surra.

Nous n'avons fait, sur cette association, qu'un très petit

nombre d'expériences : les animaux se sont comportés comme ceux inoculés de Spirilles et Nagana, avec cette seule différence que la mort survenait à des époques plus éloignées, du fait de la moindre virulence du Surra (virus de l'île Maurice du Dr Lafont) pour la souris.

Tick-fever et Dourine.

L'évolution de la Dourine (virus Rouget 1904) chez la souris n'a pas la précision ni la rapidité de celle du Nagana; nous nous bornerons donc ici à résumer brièvement les observations faites au cours de nos expériences.

L'inoculation de Spirilles, pratiquée quatre jours après celle du Trypan., a donné des survies variant de 9 à 29 jours (dans une expérience actuellement en cours; deux souris, inoculées depuis un mois et demi, ne présentent qu'une petite quantité de Trypan.).

L'inoculation de Trypan., faite pendant l'infection à Spirilles, n'a donné aucun résultat : la Dourine a évolué normalement.

Des inoculations, faites en mélange dans le péritoine à 4 souris, ont permis de conserver 3 des animaux plus de 2 mois; ils sont encore vivants et, seul, l'un d'eux a présenté, le 11e jour, quelques rares Trypan. Le 4e est mort le 24e jour, avec des Trypan. nombreux.

Nous avons constaté plusieurs fois, dans l'infection mixte, une troisième récidive de Spirilles, environ 1 mois après l'inoculation.

Chez une souris inoculée de Spirilles depuis 20 jours, et semblant guérie, il est fait une inoculation de Dourine : le 29e jour, les Spirilles réapparaissent pendant 3 jours.

Tick-fever et Trypan. gambiense.

Nous avons expérimenté chez la souris, le rat blanc et le cobaye. Nous transcrivons simplement les observations suivantes, forcément non concluantes, car l'affection à *gambiense* est longue, irrégulière chez ces animaux.

Chez la *souris*, l'inoculation de Spirilles 15 jours après celle de Trypan. fait rapidement tomber les Trypan. à 0, alors que les témoins en présentent une quantité notable. 3 mois 1/2 après le début de l'infection, les Trypan. sont nombreux ou non

rares chez les témoins; les souris ayant reçu des Spirilles n'en présentent plus. Cependant elles ne sont pas guéries, car l'inoculation d'une grande quantité de leur sang à un animal neuf lui donne une infection sûre.

Chez une souris spirillée, l'inoculation de Trypan. donne une évolution, qui paraît normale, de la maladie à *gambiense*.

Chez les *rats blancs*, il est difficile de se rendre compte de l'action des Spirilles, l'infection à Trypan. subissant normalement des régressions nombreuses et variées.

Quatre *cobayes* ont été infectés de Trypan. Au bout de 2 mois, des Spirilles sont inoculés à deux d'entre eux : les Trypan. tombent à 0 presque immédiatement, bien que l'infection à Spirilles ait été très légère. Les témoins ont toujours présenté des parasites.

Les animaux, non guéris, sont encore actuellement vivants.

Tick-fever et Trypan. lewisi.

A plusieurs rats présentant une infection intense à *Trypan. lewisi*, M. Mesnil a inoculé dans le péritoine le Spirille de la *tick-fever*. Dans aucun cas, malgré le résultat positif de l'inoculation spirillaire, il n'y a eu action sur les Trypan. qui ont persisté encore longtemps en grand nombre comme chez les témoins.

Ce fait est à rapprocher de l'action nulle des divers médicaments, actifs vis-à-vis des Trypan. pathogènes des mammifères, sur le *Trypan. lewisi*. MM. Laveran et Mesnil[1] l'ont établi pour le sérum humain, l'arsénite de soude et le trypanroth. M. Mesnil (recherches inédites) n'a pu non plus obtenir d'action avec les meilleures des couleurs de benzidine étudiées par M. Nicolle et lui-même, pas plus qu'avec l'atoxyl ou son dérivé acétylé.

Conclusions.

1° L'infection mixte à Spirilles et Trypan. modifie la marche des deux infections simples;

2° En général, chaque fois que reparaissent les Spirilles, les Trypan. régressent, chez les animaux résistants;

3° Cette régression périodique des Trypan. entraîne une survie notable des animaux infectés;

1. Laveran et Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris, Masson, p. 95.

4° L'infection mixte amène l'apparition, à des dates particulièrement éloignées, de nouvelles infections à Spirilles;

5° L'explication de la survie ne peut être cherchée dans une atténuation de virulence du Trypan.;

6° L'action des produits solubles émanant des Spirilles vivants pourrait peut-être expliquer en partie le retard de la mort par Trypan., car ces Trypan. montrent un certain état de vaccination contre de nouveaux Spirilles;

7° Les produits solubles des Spirilles morts n'ont aucune action sur les Trypan.;

8° La manière dont les deux inoculations sont pratiquées importe beaucoup. C'est l'inoculation de Spirilles dans le péritoine faite un jour après celle des Trypan. sous la peau, qui paraît donner les meilleurs résultats pour le Nagana.

Institut Pasteur, 14 juillet 1907.

Sur des régions paludéennes prétendues indemnes d'Anophélines en Algérie

Par les Drs Edmond SERGENT et Étienne SERGENT

Au cours de l'hiver dernier, M. le Pr Kelsch s'est élevé contre le soi-disant absolutisme de la doctrine anophélienne dans trois intéressantes communications à l'Académie de Médecine [1].

Sur deux points, l'éminent savant obtiendra d'unanimes suffrages :

En premier lieu, lorsqu'il demande que la prophylaxie du paludisme basée sur les découvertes récentes ne fasse pas oublier les anciennes pratiques qui ont, en somme, pour but le renforcement de la résistance des organismes infectés, par l'amélioration des conditions hygiéniques générales.

En second lieu, il est évident que la connaissance de l'étiologie anophélienne n'implique pas la négation de la possibilité d'une autre étiologie. Celle-ci ne peut être ni affirmée ni infirmée. On sait que la doctrine anophélienne dit la vérité ; mais on peut, on doit se demander si elle la dit tout entière.

Toutefois, l'existence d'un mode de propagation autre que la piqûre de Moustiques infectés, jusqu'à ce qu'elle soit prouvée par des faits bien établis, doit rester l'objet d'un doute provisoire.

M. le Pr Kelsch apporte de nombreux documents bibliographiques pour démontrer l'insuffisance de la doctrine anophélienne. Parmi tous ces arguments, nous n'en avons trouvé qu'un nouveau, original et inédit, qui fût de nature à faire supposer l'intervention d'un facteur inconnu.

Il a trait à l'absence d'Anophélines de régions paludéennes. M. le Pr Kelsch écrit [2] : « J'extrais d'une lettre, — elle me vient de l'inspecteur général, directeur du service de santé de l'Algérie et de la Tunisie, — le passage suivant : « Nous avons « eu récemment une recrudescence très accusée du paludisme à

1. *Bull. Ac. méd.*, 3e s., t. LVI, 1906, p. 206 (2 octobre), p. 343 (30 octobre), p. 615 (26 décembre). Réponses de M. Laveran : p. 270 (16 octobre) et p. 51 (4 décembre).

2. *Bull. Ac. méd.*, 3e s., t. LVI, 1906, p. 350.

« Batna et à Lambèse, et on n'a pu trouver un seul Anophèle « parmi les moustiques capturés au cours de la saison. » Il me paraît difficile de récuser ce témoignage émanant de médecins instruits, attentifs, consciencieux et pénétrés de la haute importance attachée à la solution de la question en litige. »

Nous avons effectué, dès que la saison l'a permis, durant la seconde quinzaine de juillet 1907 (période préépidémique à cette altitude de 1,000 mètres) une enquête sur cette recrudescence du paludisme à Lambèse et à Batna en 1906.

Deux questions préalables se posaient :

1° L'épidémie de 1906 était-elle bien due au paludisme?

2° Les cas étaient-ils contractés dans ces deux localités, ou y étaient-ils importés?

Les témoignages de nos distingués confrères M. Bruncher, médecin de la Maison centrale, MM. Jeandidier et Massenet, médecins-majors aux zouaves, permettent d'affirmer qu'il s'agissait bien de paludisme autochtone.

Ce point établi, nous avons procédé à notre enquête suivant notre méthode habituelle : par la recherche du réservoir de virus et des gîtes à Anophélines.

Réservoir de virus. — Le procédé d'évaluation de l'importance du *Réservoir de virus* que nous préconisons consiste à établir le pourcentage des grosses rates paludéennes chez les indigènes (surtout les enfants). Ce pourcentage constitue l'index endémique.

A Lambèse, l'index endémique printanier est le suivant :

1° Indigènes du village :

Enfants	de 0 à 5 ans	8 grosses rates sur	31 examinés		22 sur 84
	6 à 10 —	10 —	30 —		
	11 à 15 —	4 —	23 —		
Adultes	....				4 — 8

La forte proportion des grosses rates chez les enfants : 26,1 0/0, montre bien que le paludisme est endémique à Lambèse, ce qui confirme les observations de M. le D[r] Bruncher;

2° Détenus de la Maison centrale :

Parmi eux un grand nombre reviennent de chantiers malsains. Tous adultes.

19 porteurs de grosses rates sur 320 examinés.

Le sang d'un indigène des douars voisins, examiné en plein accès, nous a montré le parasite de la tierce maligne.

Gîtes à Anophélines. — A Lambèse, dans la Maison centrale même, nous avons trouvé des *Anopheles maculipennis*, femelles hiverneuses[1]. Depuis notre passage, M. Nérat, directeur de la Maison centrale, qui a appris à les reconnaître, en capture facilement dans son appartement, à quelques mètres du casernement des zouaves.

Les gîtes à larves principaux sont actuellement : 1° l'oued Taguescrit, en amont du village, et, surtout, 2° l'oued Boukhabouza, de 700 à 1,000 mètres de la Maison centrale. Ce dernier oued est sec tout l'été en temps normal. Mais l'abondance des pluies et de la neige durant les hivers 1905-06 et 1906-07 l'ont fait couler durant tout l'été en 1906 et le feront couler en été 1907 (observations de M. Giner, adjoint au maire et propriétaire le long de cet oued). Il y a une coïncidence remarquable entre l'apparition anormale de l'eau dans cet oued et la recrudescence de l'épidémie de 1906.

Par contre, il n'y a aucune coïncidence entre cette épidémie et les fouilles archéologiques dans les ruines de Lambèse, que l'on avait incriminées en 1906 et même fait suspendre. En effet, M. le directeur de la Maison centrale constate, dans un rapport officiel, que les fouilles ont lieu tous les ans au même endroit, depuis dix ans, et c'est seulement en 1906 qu'a sévi fortement le paludisme.

A Batna, les gîtes à Anophélines sont constitués par l'oued Batna lui-même. De jeunes larves d'*Anopheles maculipennis*, provenant de la première ponte des femelles hiverneuses, ont été trouvées dans cet oued au sud et au sud-ouest de la ville, à 700 mètres environ du camp. Des Anophèles adultes ont été trouvés en pleine ville (en face de l'église).

* * *

La question est donc résolue : ni à Batna ni à Lambèse on

1. Le fait de rencontrer des femelles *hiverneuses* démontre bien l'existence, en 1906, d'Anophélines dans la même localité.

ne constate une exception à la loi de Grassi : pas de paludisme sans anophélisme.

Nous nous permettrons une observation en terminant : M. le P[r] Kelsch rend hommage au savoir et à la conscience des médecins qui ont opéré la première enquête, à résultats négatifs. Personne, en effet, n'ignore ce que la science et la nosographie algérienne en particulier doivent au glorieux corps des médecins de l'armée d'Afrique, dont M. le P[r] Kelsch est un des plus vénérés représentants ; mais, en l'espèce, la recherche des Anophélines, dont les mœurs diffèrent de celles des autres Moustiques, n'est pas œuvre de médecin, mais œuvre d'entomologue spécialiste.

Analyse de quelques mélanges d'acides gras volatils

Par M. A. LASSERRE.

Plusieurs procédés ont été employés pour la séparation et le dosage des mélanges d'acides gras volatils. Basés, les uns sur la distillation fractionnée (Liebig et Duclaux), les autres sur la transformation en sels de solubilités ou de formes cristallines différentes (sels de calcium, de baryum ou de guanidine), ces procédés ont paru longs et incertains, appliqués à des mélanges de plus de deux acides.

De tels mélanges se rencontrant parfois dans les produits de fermentations, j'ai pensé qu'il serait utile d'apporter une contribution à leur analyse.

Dans ce but, j'ai étudié quelques mélanges de trois ou quatre des acides gras volatils les plus simples, au moyen d'une méthode basée sur ce fait que : les acides formique et acétique ne sont pas enlevés de leurs solutions aqueuses étendues par agitation répétée avec le benzène ou le toluène ; tandis que les acides butyriques (normal et iso) et valériques (normal et iso) passent, au contraire, en totalité dans le carbure.

Les mélanges de trois ou de quatre de ces acides peuvent ainsi, par agitation répétée avec le benzène. être séparés en deux solutions : *a*) une solution aqueuse renfermant les acides formique et acétique ; *b*) une solution benzénique renfermant les acides butyriques et valériques.

Une partie de la solution aqueuse *a*) est traitée ensuite par la méthode de distillation fractionnée de Duclaux, afin de connaître la nature de l'acide ou des acides qu'elle renferme. Une autre partie de la même solution sert à leur dosage après transformation en sels de baryum.

On enlève au benzène les acides qu'il a dissous en l'agitant avec un léger excès d'eau de baryte. Après séparation, la solution alcaline acidifiée par l'acide phosphorique est soumise à la distillation, ce qui permet de recueillir les acides volatils en solution aqueuse.

Cette dernière solution est enfin traitée comme la première (distillation fractionnée et transformation en sels de baryum).

Ce procédé est applicable aux mélanges renfermant les

acides isobutyrique et valérique normal, puisque, ainsi que je l'ai montré antérieusement[1], ils peuvent se différencier des autres acides gras volatils, au moyen de la méthode de Duclaux. Au contraire, il est inapplicable à ceux renfermant de l'acide propionique, celui-ci étant presque également soluble dans l'eau, le benzène ou le toluène.

Je me suis assuré que les divers traitements indiqués n'altèrent en rien les acides étudiés, et que les nombres fournis par la distillation fractionnée suivant la méthode Duclaux sont bien ceux qui les caractérisent.

La transformation des acides en sels de baryum permet d'effectuer leur dosage de la façon suivante :

Un volume connu de la solution acide est, après neutralisation par l'eau de baryte, évaporé, desséché et pesé. Soit P ce poids.

On transforme ensuite ce résidu en sulfate, qui par calcination donne le poids de baryum contenu dans le volume employé. Soit P′ ce poids.

Si x et y sont les poids des deux sels de baryum obtenus, la 1e pesée donne :

$$x + y = \mathrm{P}.$$

Si M et M′ sont les poids moléculaires de ces deux sels, la 2e pesée donne :

$$\frac{x}{\mathrm{M}} + \frac{y}{\mathrm{M}'} = \frac{\mathrm{P}'}{137}.$$

Ces deux équations donneront les valeurs de x et y, qui permettront de passer à celles des deux acides correspondants. En effet si μ et μ' sont les poids moléculaires de ces acides, leurs valeurs seront données par les expressions suivantes :

$$x = \mathrm{P}'\left[\frac{2\mu\mathrm{M}'}{137\,(\mathrm{M}'-\mathrm{M})}\right] - \mathrm{P}\frac{2\mu}{\mathrm{M}'-\mathrm{M}} \cdot \cdot$$

$$y = \mathrm{P}\frac{2\mu'}{\mathrm{M}'-\mathrm{M}} - \mathrm{P}'\left[\frac{2\mu'\mathrm{M}}{137\,(\mathrm{M}'-\mathrm{M})}\right].$$

On voit que les valeurs de x et de y seront obtenues avec

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, janvier 1907.

d'autant plus d'approximation que les poids moléculaires des sels de baryum correspondants seront différents.

Voici quelques exemples de dosages obtenus par ce procédé :

MÉLANGES	TENEUR PAR LITRE		
	Mis.	Trouvé.	Différence.
Acide acétique	3 gr. 225	3 gr. 160	0 gr. 06
— butyrique	4 gr. 440	3 gr. 760	0 gr. 60
— isovalérique	5 gr. 630	5 gr. 200	0 gr. 43
Acide formique	4 gr. 174	3 gr. 463	0 gr. 71
— acétique	4 gr. 836	4 gr. 122	0 gr. 71
— butyrique	3 gr. 960	4 gr. 230	0 gr. 27
— isovalérique	6 gr. 487	7 gr. 016	0 gr. 52
Acide formique	2 gr. 834	2 gr. 793	0 gr. 04
— acétique	1 gr. 624	1 gr. 853	0 gr. 22
— isobutyrique	6 gr. 776	6 gr. 160	0 gr. 61
— valérique normal	5 gr. 691	5 gr. 370	0 gr. 32

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

Le Gérant : G. MASSON.

21me ANNÉE NOVEMBRE 1907. No 11

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Recherches sur le mode de coloration du pain bis

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET W. MUTERMILCH

Le pain bis étant préparé avec la farine qui renferme du son, tandis que le pain blanc s'obtient avec la farine pure, on a pensé que l'aspect du premier était dû à la dissolution d'une matière colorante contenue dans la pellicule extérieure du grain.

Cette explication fort simple a conduit à essayer la fabrication du pain blanc avec du froment débarrassé de sa pellicule colorée au moyen du dépiquage. Comme la séparation de la farine et du son par le procédé ordinaire de mouture entraîne l'exclusion d'une certaine quantité de gruaux intermédiaires, on espérait réaliser ainsi un rendement plus élevé en pain blanc. Or, on s'est aperçu que le pain fabriqué par la nouvelle méthode était absolument bis.

Mège-Mouriès a donné une explication partielle de ce fait en montrant que la coloration grise, loin d'être due à la dissolution d'une matière colorante du son, était provoquée, au cours de la panification, par l'action d'une substance comparable à un ferment [1].

Cette substance, qu'il a appelée *céréaline*, est contenue dans une couche de cellules spéciales, dite quelquefois couche à aleurone, située à la périphérie de l'amande. Pendant la mouture, la couche à aleurone se sépare de l'amande, mais reste adhérente aux débris de l'enveloppe. Elle fait donc partie intégrante du son [2].

1. *Comptes rendus Ac. d. Sc.*, t. XLII, p. 1122 (1856); t. XLIV, p. 40 et p. 44 (1857); t. XLVIII, p. 126 (1858); aussi : *Mémoires Soc. nat. d'Agric.*, t. CV, p. 180 (1860).
2. On trouvera une description détaillée du grain de froment, accompagnée d'une planche en couleur, dans les *Compt. rend. Ac. Sc.*, t. XLIV, p. 450 (1857).

Si on fait macérer dans l'eau les pellicules de son et les gruaux intermédiaires qui renferment toujours une certaine quantité de son, la céréaline se dissout et peut ensuite être éliminée par filtration. Ou bien encore, si on introduit le son et les gruaux dans la pâte levée, c'est-à-dire peu de temps avant la cuisson, la céréaline n'a plus le temps d'agir. On a ainsi deux moyens, proposés par Mège-Mouriès, d'utiliser le grain de blé d'une manière presque intégrale dans la fabrication du pain blanc.

En quoi consiste l'action de la céréaline? Comment cette substance détermine-t-elle la coloration du pain bis?

D'après les observations de Mège-Mouriès, la céréaline saccharifie l'amidon et transforme le glucose produit en acide lactique, puis, si le contact est prolongé, en acide butyrique.

Elle donne au *lait de son* la propriété de s'aigrir et de se colorer sous l'influence de l'air.

Enfin, elle altère profondément le gluten en donnant, parmi d'autres produits, de l'ammoniaque, une matière dont la couleur brune rappelle l'ulmine et une substance azotée capable de transformer le sucre en acide lactique.

On voit, par cette description, donnée en 1857, que des microbes divers intervenaient dans les transformations attribuées à la céréaline. Il était donc impossible de savoir, d'après les expériences de Mège-Mouriès, si le brunissement du pain bis était dû à une substance particulière du type des ferments solubles ou bien à des microorganismes dont, parmi d'autres hypothèses, le son, riche en phosphates, aurait favorisé le développement.

A la suite de la découverte des oxydases, Boutroux a repris, en 1895, l'étude de la coloration du pain bis [1]. D'après ce savant, le son renferme de la laccase et une substance de nature indéterminée sur laquelle réagit le ferment soluble. « Une macération de son, faite à froid à l'abri de l'air, stérilisée par filtration au filtre Chamberland, est blonde. Au contact de l'air pur de germes, elle brunit peu à peu et devient, au bout de plusieurs semaines, presque noire.

« Un chauffage à 100° fait perdre à l'extrait de son la propriété de brunir à l'air.

1. *Comptes rendus Ac. Sc.*, t. CXX, p. 934 (1895).

« Enfin, de l'extrait de son ayant été traité par l'alcool, on a obtenu un précipité et une liqueur. Le précipité a été lavé à l'alcool, puis séché dans le vide à froid. La liqueur a été évaporée, dans le vide à froid, jusqu'à siccité. Les deux substances, reprises par l'eau, ne brunissent pas à l'air séparément. Mélangées, elle brunissent à l'air d'une manière manifeste, quoique moins intense que l'extrait de son naturel. »

En poursuivant les expériences de Mège-Mouriès et de Boutroux, nous avons, à notre tour, trouvé quelques faits nouveaux. Les premiers se rapportent aux ferments solubles du son; ils montrent, en particulier, que la diastase oxydante reconnue par Boutroux n'est pas de la laccase, mais une substance du type, découvert depuis par l'un de nous, de la tyrosinase [1]. Les autres font connaître le chromogène, son origine et la manière dont les diastases du son interviennent dans le brunissement du pain bis.

Voyons d'abord comment on procède à l'extraction des diastases :

Du son de froment, mélangé avec quatre parties d'eau, est placé dans un flacon que l'on remplit autant que possible et que l'on bouche. On peut prendre de l'eau saturée de chloroforme, mais cela n'est pas indispensable. Après quelques heures de macération, ou mieux une journée, en prenant la précaution de mettre le flacon dans une glacière, on passe le mélange à la presse, à travers un linge. On centrifuge ensuite le liquide pour éliminer les particules en suspension.

La solution limpide décantée est alors additionnée de trois fois son volume d'alcool à 95 0/0 : on centrifuge de nouveau; le précipité est lavé une fois à l'alcool à 80 0/0, puis délayé dans l'eau distillée. On laisse en contact pendant quelque temps et l'on sépare, toujours à la centrifuge, les matières protéiques coagulées et la solution diastasique.

Celle-ci est traitée par trois à quatre volumes d'alcool ; le précipité qui se forme est rassemblé, lavé à l'alcool fort, enfin desséché dans le vide, sur l'acide sulfurique. Le rendement est de 0,8 0/0 environ.

1. G. Bertrand. *Compt. rend. Ac. de Sc.*, t. CXXII, p. 1215 (1896); t. CXXIII, p. 463 (1896) et *Bulletin Soc. chim.*, 3e série, t. XV, p. 793 et p. 1218 (1896). Dans ce dernier mémoire, page 1220, ligne 19, lire : 1 est à 4.500, au lieu de : 1 est à 4, soit 500.

Ce précipité absolument blanc, soluble dans l'eau, ne contient pas de laccase. En effet, si on l'introduit dans une solution aqueuse de gayacol, il ne produit pas trace de tétragayacoquinone : on ne voit apparaître ni précipité ni coloration rouge, même après plusieurs jours [1].

L'émulsion de résine de gayac, préparée avec une teinture récente de résine, devient tout au plus verdâtre. Avec l'hydroquinone, on obtient seulement une coloration rose faible.

L'absence de laccase dans le précipité ne provient pas de ce que le traitement a détruit cette oxydase ou l'a laissée dans les liquides hydroalcooliques, car la macération aqueuse de son, filtrée ou non à la bougie de porcelaine, puis additionnée de gayacol, ne donne pas la réaction de la tétragayacoquinone. Cette macération est également dépourvue d'action notable sur la résine de gayac.

Le précipité diastasique renferme, par contre, une tyrosinase. Pour le démontrer, sans courir le risque d'une intervention microbienne, on filtre la solution aqueuse à travers une bougie Chamberland, puis on la répartit dans plusieurs tubes stérilisés,

Il est alors facile de constater :

1° Que la solution seule ne prend au contact de l'oxygène atmosphérique aucune coloration;

2° Qu'elle se colore successivement en rose, puis en rouge cerise et finalement en noir, si on y ajoute, aseptiquement, une solution de tyrosine. Une durée de quelques heures suffit pour obtenir cette série de colorations ;

3° Que le phénomène de coloration de la tyrosine n'a plus lieu si on opère dans un tube d'où la totalité de l'oxygène, gazeux et dissous, a été extraite à l'aide d'une trompe à mercure ;

4° Enfin, qu'il n'y a pas non plus de coloration de la tyrosine, même en présence de l'air, lorsque la solution diastasique a été maintenue 5 minutes dans un bain-marie à + 100°.

Cette tyrosinase n'est pas la seule substance diastasique contenue dans le précipité extrait du son de froment. Elle est accompagnée de plusieurs autres, parmi lesquelles la leptomine

1. G. Bertrand, Action de la laccase sur le gayacol, *Compte rend. Ac. Sc.*, t. CXXXVII, p. 1269 (1903) et *Bull. Soc. chim.*, 3e série, t. XXXI, p. 211 (1904).

de Raciborsky [1] appelée aussi peroxydase ou mieux peroxydiastase.

La peroxydiastase réduit l'eau oxygénée en présence de certains corps organiques : l'hydroquinone, le pyrogallol, le gayacol, la résine de gayac, etc. Dans cette réaction, le corps organique s'empare de l'atome d'oxygène et donne le même dérivé quinonique qu'on obtiendrait si on l'oxydait par l'air — c'est-à-dire par l'oxygène moléculaire — en présence de la laccase [2].

C'est ainsi que la solution aqueuse préparée avec le précipité diastasique du son donne, quand on y ajoute un peu d'eau oxygénée et, cela, malgré l'exclusion totale de l'oxygène, gazeux ou dissous :

Avec le gayacol : une production presque instantanée de tétragayacoquinone, reconnaissable à la coloration rouge du liquide, bientôt suivie de la précipitation d'une poudre microcristalline de couleur pourpre :

Avec l'hydroquinone : une cristallisation rapide de quinhydrone ;

Avec le pyrogallol : un dépôt cristallisé de purpurogalline ;

Enfin avec la teinture de résine de gayac : une coloration bleu intense.

La tyrosinase du son de froment est beaucoup plus résistante à la chaleur que celle du champignon.

Comme le laccase de l'arbre à laque, il faut la chauffer jusque vers 100° pour lui enlever rapidement et complètement sa propriété oxydante. Si on la chauffe à une température inférieure, par exemple vers 95°, elle ne perd son activité que d'une façon transitoire; après plusieurs jours de conservation à la température ordinaire, on assiste, en quelque sorte, à la reviviscence de la diastase : la solution reprend le pouvoir d'oxyder la tyrosine.

La nouvelle tyrosinase est, par suite, différente de celle des champignons; c'est une thermo stabil-tyrosinase, l'autre étant au contraire une thermolabil-tyrosinase [3].

1. *Bericht. d. d. botan. Gesells.*, t. XVI, p. 119 (1898).
2. Voir une analyse de G. Bertrand dans *Bull. Inst. Pasteur*, t. II, p, 398 (1904).
3. La peroxydiastase du son est encore plus stable que la tyrosinase : une très courte ébullition tue celle-ci mais n'entrave pas complètement l'action de celle-là; pour tuer la peroxydiastase, une ébullition de quelques minutes est nécessaire; c'est donc aussi une diastase relativement thermostable.

Ces faits préliminaires étant établis, nous allons pénétrer plus loin dans le phénomène de brunissement du pain bis et montrer qu'*il s'agit là de deux actions diastasiques successives; la première élaborant, en quelque sorte, la substance qui est oxydée dans la seconde.*

Les expériences suivantes montrent d'abord que, contrairement à ce qu'on aurait pu supposer, la macération aqueuse de son ne renferme ni tyrosine ni substance analogue colorable par la tyrosinase.

On fait macérer pendant quelques heures une partie de son de froment avec 4 à 5 parties d'eau, puis on sépare le liquide à la presse, on le filtre à la bougie Chamberland et on l'introduit dans des tubes à essai stérilisés munis d'un tampon d'ouate. Les tubes sont ensuite chauffés dans un bain-marie bouillant pendant 5 minutes pour détruire toutes les diastases en dissolution.

Si on ajoute alors, après refroidissement, un peu de tyrosinase, il se conservent sans prendre aucune coloration.

Nous nous sommes servi de deux sortes de tyrosinase. La première provenait du son; on l'a obtenue comme il a été dit plus haut. La seconde a été extraite par la glycérine d'un champignon particulièrement riche : *Russula Queletii* Fr. Au moment du besoin, l'extrait glycériné[1] a été dilué avec un peu d'eau et filtré à la bougie.

La substance qui, dans la macération aqueuse de son, se colore à l'air sous l'influence de la tyrosinase, est produite, au cours d'une transformation antérieure, par une autre diastase.

Pour le démontrer, on introduit la macération aqueuse de son, après son passage au filtre de porcelaine, dans des tubes stérilisés d'une forme spéciale, permettant l'extraction des gaz à la trompe à mercure. Afin de favoriser le départ de l'air dissous, on maintient le liquide des tubes quelques minutes à l'ébullition, pendant le vide, en chauffant très doucement; enfin, lorsque l'extraction est complète, on scelle à la lampe.

Une partie des tubes est alors chauffée cinq minutes dans un bain-marie bouillant; elle est destinée à servir de témoin.

1. Pour préparer cet extrait, on débarrasse le champignon de son épiderme coloré, on le coupe en petits morceaux et on le met dans un flacon avec deux fois son poids de glycérine à 30°B. On agite de temps en temps les premiers jours et on conserve dans une armoire, à l'abri de la lumière.

On la place ensuite, avec le reste des tubes, dans une étuve à + 35°. Après un certain temps, variable de quelques jours à plusieurs semaines, on procède à l'examen comparatif des tubes. Ceux qui n'avaient pas été chauffés sont maintenus cinq minutes vers 100°. Ils ne diffèrent plus alors des tubes témoins qu'en ce que les diastases — sauf la tyrosinase [1] — ont pu y exercer leur action.

En ouvrant les tubes, on constate : 1° qu'il n'y a de coloration, au seul contact de l'air, dans aucun des liquides; 2° qu'après avoir ajouté de la tyrosinase (soit du son, soit des champignons), le liquide des tubes témoins reste sans changement, tandis que celui des autres tubes prend très vite une coloration rose, devenant rouge cerise, puis brun foncé. Comme on ne peut savoir d'avance le temps qu'il est nécessaire de laisser les tubes à l'étuve, il faut opérer par tâtonnements. C'est pourquoi on a préparé une série de tubes chauffés et non chauffés. De temps en temps, on examine un couple de ces tubes. Quand l'expérience est réussie, on obtient une coloration rapide et intense par la tyrosinase.

Ainsi, le brunissement de l'extrait de son résulte bien de deux actions diastasiques successives : la première met en liberté un chromogène incolore ayant les caractères essentiels de la tyrosine; la seconde fixe l'oxygène atmosphérique sur ce chromogène et donne finalement un produit brun noir.

Quelle est la nouvelle substance diastasique, celle qui agit dans la première phase du phénomène? D'après nos expériences, c'est une protéase : elle hydrolise, avec production de tyrosine, non seulement les matières protéiques du son et celles du gluten, mais encore la caséine du lait de vache. On sait que ces diverses matières protéiques sont parmi les plus riches en tyrosine.

La protéase du son de froment, que l'on pourrait appeler *gluténase*, est inactive en milieu alcalin; elle agit en milieu neutre et, beaucoup mieux encore, en milieu acide. Les acides organiques (acétique, oxalique) et les acides minéraux (chlorhydrique) peuvent servir à activer son pouvoir digestif. C'est ainsi que dans une solution, renfermant deux millièmes d'acide chlorhydrique, nous avons obtenu en quelques jours une pro-

1. Et aussi la peroxydiastase, puisqu'il n'y a pas de peroxyde d'hydrogène.

duction de tyrosine qui, pour être aussi manifeste en milieu neutre, exigerait deux semaines.

Voici comment nous nous sommes assurés de la mise en liberté de la tyrosine par l'action de la gluténase sur les matières protéiques.

Une petite quantité de ces matières, environ un demi-gramme, était introduite avec quelques centimètres cubes d'eau dans un tube simplement bouché avec un tampon d'ouate. Après stérilisation à l'autoclave à + 115° et refroidissement, on ajoutait un peu de solution préparée avec le précipité diastasique du son et filtrée à la bougie Chamberland. On procédait aussitôt à l'extraction totale de l'air, libre ou dissous, à l'aide de la trompe à mercure et l'on scellait le tube. La digestion était ensuite obtenue par un séjour plus ou moins prolongé à l'étuve, vers + 35°. Lorsqu'on la jugeait suffisante, on plongeait le tube dans un bain-marie bouillant, pendant cinq minutes; on le laissait refroidir, puis on l'ouvrait pour essayer sur son contenu l'action de la tyrosinase. Lorsque la digestion avait été suffisamment prolongée, on obtenait la série caractéristique des colorations.

La tyrosinase étant très sensible à l'action des acides — et aussi des alcalis, — il faut neutraliser les liquides avec le plus grand soin avant d'y ajouter le ferment soluble. On termine en produisant une infime acidité acétique.

Les matières protéiques du son qui ont servi dans ces expériences ont été obtenues en même temps que le précipité diastasique par l'action de l'alcool sur la macération aqueuse du son.

Comme le contact de l'alcool les a coagulées, elles restent insolubles lorsqu'on reprend le précipité par l'eau, pour en extraire les diastases. En raison de leur état, il faut une quinzaine de jours pour en obtenir une digestion notable avec la gluténase; la caséine du lait de vache est digérée beaucoup plus rapidement.

La double réaction diastasique qui détermine la coloration du pain bis ne représente pas un phénomène isolé : elle est le type de toute une série de transformations qu'il y a lieu de supposer analogues, parmi lesquelles il faut citer les *mélanoses* animales étudiées chez plusieurs insectes, chez la seiche, chez

le cheval atteint de certaines tumeurs, par Biedermann[1], par von Fürth et Schneider[2], par Przibram[3] et surtout par Gessard[4]. Dans aucun de ces exemples, on n'avait déterminé le mode de production du chromogène; on avait seulement démontré l'intervention d'une tyrosinase, reconnu dans quelques cas la présence de la tyrosine.

L'étude de la coloration du pain bis permet d'interpréter d'une manière plus complète et plus précise les diverses mélanoses.

1. *Pflügers Archiv*, t. LXXII, p. 105 (1898).
2. *Beiträge z. chem. Physiol. Path.*, t. I, p. 229 (1901).
3. Cité dans le mémoire précédent.
4. *Comp. rend. Ac. Sc.*, t. CXXXVI, p. 631 et p. 1086 (1903). *Idem*, t. CXXXIX, p. 644 (1904).

DES TROPISMES DU " BACTERIUM ZOPFII " KURTH

Deuxième note

PAR LE D[r] EDMOND SERGENT.

Ma première note avait paru [1] et les expériences rapportées ici étaient en cours d'exécution, lorsque j'eus connaissance d'un travail paru en 1906 de H. C. Jacobsen [2], qui, dans le même temps que H. Zikes et moi-même, mais tout à fait indépendamment, s'était occupé des curieuses cultures du *Bacterium zopfii* en gélatine.

Jacobsen conclut que le *B. Z.* possède la propriété de réagir à une excitation extérieure, qui consiste dans la tension élastique de la gélatine. Il réagit différemment aux forces de pression et à celles d'étirement. Jacobsen propose de désigner cette propriété sous le nom d'élasticotropie.

Mes expériences confirment celles de Jacobsen, et la seule raison qui me fait penser qu'il est peut-être intéressant de les publier, est qu'elles arrivent aux mêmes conclusions que celles de cet auteur, par une technique et des procédés différents.

Dans une première note j'étais arrivé à constater que les cultures du *B. Z.* sur gélatine tenue verticale obéissent à des tropismes commandés par la pesanteur et aussi par le voisinage d'élevures de la surface de la gélatine (en particulier des bords de cette surface).

I

C'est ce qu'on peut voir dans la photographie de la figure 1. (Gélatine inclinée sur un petit côté de boîte de Roux.)

1. *Ann. Inst. Past.*, t. XX, déc. 06, pp. 1005-1017.
2. Ueber einen richtenden Einfluss beim Wachstum gewisser Bakterien in Gelatine, *Centrabl. f. Bakt.*, etc., II, t. XVII, 1906, n[os] 1-2, pp. 53-64.

On peut supprimer l'action des bords par le procédé suivant : ayant fait solidifier la gélatine sur le petit côté d'une boîte de Roux (comme dans la figure 1), on chauffe légèrement sur la flamme du bec Bünsen ce côté de la boîte. Le bloc de gélatine



Fig. 1.

se décolle et il est facile de le faire glisser par un brusque mouvement sur un des grands côtés de la boîte où il repose sur sa face convexe. On immerge la boîte dans de l'eau froide et le brusque refroidissement assure l'adhésion de la gélatine au verre dans la position voulue. On possède ainsi des blocs de gélatine affectant la forme de cylindres coupés par un plan. Les blocs étant collés au verre sur une certaine longueur de leur

face hémi-cylindrique, leur surface plane est, par contre, libre de tout point de contact avec les parois de verre.

De tels blocs sont représentés dans les figures 2 et 3.



Fig. 2.

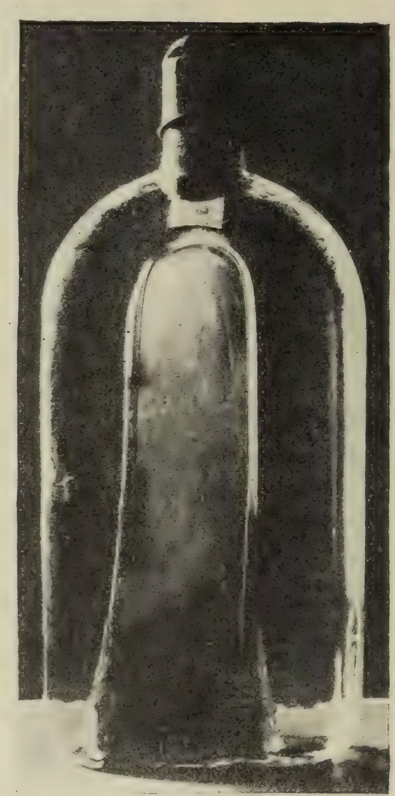


Fig. 3.

Dans la figure 4, on a utilisé de la gélatine plus molle (8 0/0).

Dans la figure 5 (gélatine dure, à 12 0/0), un des bords de la surface plane touche et adhère au verre.

La figure 6 est dans le même cas, avec de la gélatine molle (8 0/0).

Enfin, dans la figure 7, le bloc de gélatine est collé non seulement le long de son dos convexe, mais appuie sa base et son sommet aux parois de la boîte.

L'examen des cultures du *B. Z.* sur ces différents blocs de

gélatine impose cette observation que leurs directions semblent en rapport avec l'état d'étirement ou de tassement de la gélatine.

Figures 2 et 3. — La face plane est tendue verticalement par suite de ses



Fig. 4.



Fig. 5.

adhérences supérieures et inférieures : les filaments du *B. Z.* cheminent verticalement (parallèlement à la direction de la force).

Figure 4. — La gélatine molle (trop aqueuse) ne s'est pas collée assez vite au verre. Le bloc qui avait primitivement les dimensions exactes de ceux de la figure 1 s'est tassé, raccourci et élargi. Ici plus d'étirement, mais au contraire pression de haut en bas : les filaments se dirigent horizontalement (c'est-à-dire perpendiculairement à la direction de la force).

Figure 5. — L'étirement n est pas seulement vertical, il résulte aussi de l'adhérence que d'un bord de la face plane au verre : les filaments, comme il

a été vu précédemment, prennent la direction de la composante de ces deux forces (oblique à 45° sur la verticale).



Fig. 6.

Fig. 7.

Figure 6. — Dans les mêmes conditions, avec de la gélatine molle, on constate en plus l'effet du tassement.

Figure 7. — Enfin, si des précautions sont prises pour que l'étirement et le tassement soient réduits au minimum, on constate que la plus grande partie de la culture du *B. Z.* n'est sollicitée par aucun tropisme.

II

Des constatations analogues peuvent être obtenues avec des cultures en stries sur de la gélatine couvrant le grand côté des boites de Roux.

Soit, figure 8, une de ces cultures verticales normales, où la strie a été tracée au milieu de la surface.



Fig. 8.

Figure 9. — Une culture ensemencée de la même façon est maintenue inclinée (la flèche indiquant la verticale). On voit que le tassement de la gélatine vers le bas a déplacé la strie d'ensemencement, et que les filaments du *B. Z.* ont cheminé *seulement* sur la surface étirée.

La figure 10 montre qu'un corps étranger (tube de verre), immergé dans la gélatine, provoque un étirement de cette gélatine parce qu'elle adhère à lui, et modifie ainsi la direction des filaments (voir la 1re note).

III

Le phénomène de la tension de la surface de la gélatine, peu facile à observer directement sur des tubes de petit diamètre, peut être mis en évidence par l'expérience suivante :



Fig. 9.

Si l'on verse de la gélatine à 8 0/0 dans une cuvette un peu grande, on s'aperçoit qu'au bout d'un certain temps la dessiccation a amené à sa surface la formation d'une véritable membrane adhérant fortement sur les bords aux côtés de la cuvette. Cette membrane, de consistance cornée, devient imperméable, et la masse sous-jacente reste demi-fluide, étant soustraite à l'action de la dessiccation. Si la cuvette est relevée verticalement, la masse gélatineuse peu consistante se tasse à la partie inférieure, où la membrane est fortement pressée, tandis que pour la même raison sa partie supérieure est étirée (fig. 11).

La figure 3 montre un aspect fréquent de la membrane étirée : elle présente de petites rides perpendiculaires à la direction de la force de tension. L'examen au microscope montre (fig. 12) les filaments qui cheminent dans le sens de cette force et coupent à angle droit les rides.

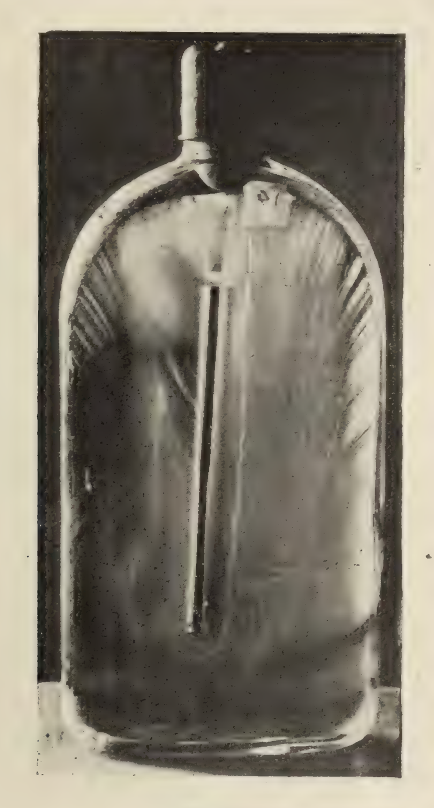


Fig. 10.

IV

Conclusions.

Mes expériences confirment donc l'existence chez le *Bacterium zopfii* d'une sensibilité particulière à la propriété d'élasticité possédée par la gélatine.

Quand la gélatine est étirée, les filaments suivent la direction de la force de tension.

Quand elle est comprimée, les filaments suivent une direction perpendiculaire à la force de pression (fig. 4), ou même la culture est nulle (fig. 9).



Fig. 11.

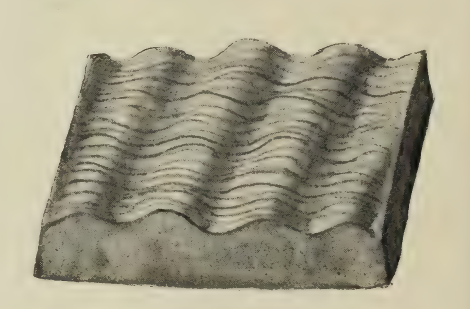


Fig. 12.

Il convient de remarquer que, dans les conditions habituelles, l'élasticité de la gélatine réagit surtout contre la force de la pesanteur. Comme exception, on peut citer la dessiccation des bords des masses de gélatine, qui est suivie d'un étirement de celle-ci, due à son élasticité.

Mais la pesanteur étant la cause la plus ordinaire de mise en jeu de l'élasticité de la gélatine, on peut dire que souvent le tropisme du *B. Z.* se trouve agir comme un géotropisme.

NOUVELLE CONTRIBUTION A L'ETUDE DE
l'hématozoaire de l'Écureuil (Hæmamœba vassali Lav.)

PAR LE Dr J.-J. VASSAL.

Nous apportons quelques faits nouveaux concernant un hématozoaire endoglobulaire pigmenté d'un écureuil de l'Annam (*Sciurus griseimanus*) que nous avons décrit il y a 2 ans [1] et que M. Laveran a nommé *Hæmamœba Vassali* [2].

Depuis la publication de notre premier mémoire, nous avons examiné 96 écureuils de provenance suivante : Province de Nha-Trang (Annam), 88; province de Phanrang (d°), 6; France, 2.

Ceux de France appartenaient à l'espèce *Sciurus vulgaris*. Ceux d'Annam comprenaient 3 espèces différentes : *Sciurus griseimanus* M. Edw., *Sciurus vittatus* Rolfes, *Sciurus sp.*. Le tableau suivant résume les résultats de mes examens de sang.

Sciurus griseimanus : 24 sains contre 40 infectés = 62,5 0/0 d'infectés;
Sciurus vittatus : 25 sains contre 3 infectés = 10,7 0/0 ;
Sciurus sp.? : 1 sain contre 2 infectés;
Sciurus vulgaris : 2 sains; pas d'infecté.

L'espèce semble jouer un grand rôle. Il est évident que, dans le Sud-Annam, le *Sciurus griseimanus* est beaucoup plus sensible que le *S. vittatus* par exemple.

Mais on ne saurait encore se prononcer définitivement, car il y a en Annam de très nombreuses espèces d'écureuils. Je ne connais, à ce jour, que le sang de 3 espèces annamites. Des chasseurs indigènes ont été expédiés à différentes reprises dans les forêts de l'intérieur. Ils m'ont rapporté quelques dépouilles intéressantes que M. O. Thomas, du *British Museum*, a bien voulu étudier et déterminer; mais, point de lames de sang pouvant être utilisées.

La maladie caractérisée par la présence dans le sang de l'*Hœmamœba* (*Plasmodium*) *vassali*, peut être appelée *Plasmodiose*,

1. J.-J. VASSAL, *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXI, avril 1905, pp. 224-234. Note prélimin. *in C. r. Soc. biologie*, 25 févr. 1905, p. 350.
2. LAVERAN. *Bull. Inst. Pasteur*, oct. 1905.

de même que les affections à piroplasmes s'appellent *Piroplasmoses*.

La plasmodiose des écureuils sera dite *P. sciurine.*

Une telle infection sanguine peut être considérable. Il n'est pas rare de prendre du sang chez un écureuil et d'assister très rapidement à une formation très riche de microgamètes. La masse sanguine est agitée de mouvements qu'on ne saurait mieux comparer qu'à ceux des préparations analogues où les trypanosomes ou les spirilles foisonnent.

Dans ces cas extrêmes, ou bien le taux parasitaire du sang diminue peu à peu et l'animal prend une forme chronique de plasmodiose, ou bien le taux se maintient et l'animal ne tarde pas à succomber.

Il y aurait donc des accès mortels et des accès qui guérissent. Comme je n'ai vu d'accès fatals que chez des écureuils capturés depuis quelques jours, je ne suis pas en état de dire s'il y a une forme aiguë de la maladie. Ce pouvait aussi bien être la terminaison d'une affection lente. En tout cas, mes sujets mouraient en cage sans qu'il y ait une modification quelconque dans le nombre et la forme des hématozoaires habituels.

Les températures des écureuils des espèces observées sont généralement comprises entre 39° et 40°.

Il n'y a pas de différences appréciables entre les courbes des animaux sains et celles des animaux malades.

Les maxima ont été de 40°,2, 40°,5, 40°,6 et 40°,7; les minima 38°, 37°,8 et 37°.

Cette dernière observation a été faite sur un *S. griseimanus* (S. 220) au moment de la mort. Dans ce cas, la plasmodiose avait été particulièrement sévère. La courbe accusa une chute en lysis qui fut très régulière et dura trois jours.

Les poids ne subissent pas de variations. L'aspect est le même, que l'animal soit atteint ou non de plasmodiose.

Les écureuils supportent d'abord très mal la captivité; mais quand ils se sont une fois départis de leur allure craintive, ils vivent fort bien en cage. A Nha-Trang, un certain nombre mouraient dans les premières semaines, soit parce que les pièges les avaient plus ou moins blessés, soit parce qu'ils ne pouvaient s'accoutumer à leur nouveau genre de vie. J'en ai rapporté quelques exemplaires d'Annam à l'Institut Pasteur de Paris.

Trois sont encore vivants après 9 mois de séjour en France.

A l'attitude et aux signes extérieurs, il n'est pas possible de faire la distinction entre les parasités et ceux qui ne le sont point.

Chez des sujets dont l'examen peut être poursuivi pendant des mois, on remarque que, lorsque la plasmodiose a été reconnue, on n'a pas de peine à la retrouver à chaque nouvelle prise de sang. Elle se maintient avec des variantes insignifiantes. La disparition des parasites de la circulation périphérique se produit parfois et le phénomène peut durer plusieurs semaines; mais c'est plutôt une exception.

Les formes sexuées sont beaucoup plus fréquentes que les formes asexuées. Chez un grand nombre d'écureuils, je n'ai jamais observé de schizontes; du moins quand l'observation n'a pas pu être prolongée.

Les écureuils de Nha-Trang ont continué à montrer à Paris les mêmes hématozoaires. Après 9 mois, on ne constate guère de changement : il y a des schizontes, des microgamétocytes et des macrogamètes. On ne saurait donc nier qu'il se fait des réinfections.

Elles ne paraissent pas résulter d'une inoculation surajoutée



Fig. A. — Grossᵗ 2,000 diam. env.

de sporozoïtes par des ectoparasites ou des moustiques, mouches, etc., car alors les voisins indemnes s'infecteraient à leur tour.

Il faut chercher l'explication dans une auto-infection qui est particulièrement active dans la plasmodiose sciurine.

Le Dr Wenyon, protozoologiste à l'École de médecine tropicale de Londres, qui a examiné plusieurs fois le sang de mes écureuils, durant son séjour à l'Institut Pasteur, a découvert

dans une préparation, colorée d'une façon réussie au Giemsa, qu'il a bien voulu nous donner, une sorte de barillet que nous représentons très exactement, d'après un dessin fait à la chambre claire :on distingue 7 éléments fusiformes (les 2 de droite se recouvrent partiellement) qui sont colorés en violet foncé, sauf vers le milieu du corps où existe un espace plus clair ; l'un des éléments de droite possède en plus une grande vacuole (voir fig A). On croit distinguer à droite du barillet les restes d'une hématie. La ressemblance avec un barillet de Coccidie est frappante (on peut supposer 5 autres éléments cachés par les premiers). Nous signalons cette découverte avec les plus expresses réserves quant à l'interprétation; elle est unique: nous n'avons jamais rien vu de semblable dans nos examens d'Annam.

J'ai eu l'occasion d'observer 4 sujets très jeunes de *Sciurus griseimanus* et 2 de *S. vittatus*. Ils avaient été pris au nid. Tous étaient indemnes.

Laplasmodiose sciurine est donc pour les écureuils une maladie chronique. Il y a bien d'autres exemples, sans sortir des plasmodioses, où les parasites ne causent que des troubles inappréciables. Les Oiseaux et les Cheiroptères supportent très bien leurs hématozoaires. Il y a un contraste frappant avec l'aspect de santé de ces animaux et la formule histologique de leur sang.

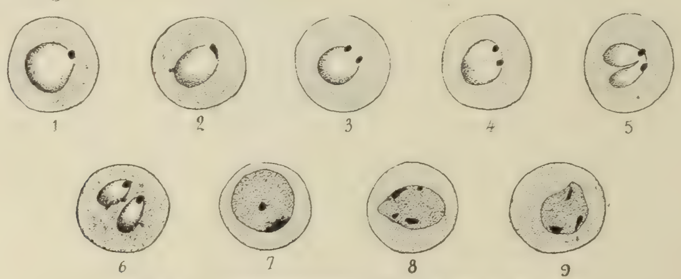


Fig. B. — Grossissement : 2,000 diam. environ.

Les lésions relevées à l'autopsie sont presque insignifiantes. La rate n'est jamais hypertrophiée.

Multiplication de l'hématozoaire. — Je n'ai observé jusqu'ici que la multiplication schizogonique.

Elle a lieu par division amitotique. Chez un écureuil, *Sciurus griseimanus*, largement contaminé, les hémocytozoaires se sont

montrés avec une grande abondance. La schizogonie s'est poursuivie deux jours consécutifs. Les figures de division se répétaient si fréquemment et avec une telle netteté qu'il a été facile de se rendre compte des transformations successives.

Tout d'abord le noyau, qui est en général compact et globuleux, s'étire et s'allonge suivant le contour extérieur du parasite (fig. B-1). L'ectoplasme ne manifeste d'abord aucun changement et la forme générale annulaire est conservée. Plus tard, la masse nucléaire se sépare transversalement et l'on distingue deux karyosomes (fig. B-3). Il se manifeste alors dans l'ectoplasme une activité particulière qui aboutit à la production d'une cloison (fig. B-4), partageant en deux portions à peu près égales le parasite. La séparation commence par le pôle opposé au noyau (fig. B-5). Les karyosomes ne s'éloignent pas beaucoup l'un de l'autre; ils se regardent de près et se font face. On a en définitive (fig. B-6) deux parasites nouveaux qui vont évoluer chacun d'une manière indépendante.

Il faut remarquer que, pendant toute la période de reproduction asexuée, les écureuils ne manifestent aucun symptôme extraordinaire et conservent leur température normale.

Il existe aussi une amitose qui donne lieu dans le même globule rouge à la formation de 3 et 4 schizontes nouveaux. Peut-être les figures 7,8,9, y conduisent-elles? Mais la division par 2 est de beaucoup la plus commune.

Hôte intermédiaire. — Les recherches entreprises pour la découverte de la sporogonie n'ont pas abouti. Nous avons d'abord examiné les ectoparasites des écureuils. En captivité, les plus habituels sont des poux, des puces et des tiques du genre *Rhipicephalus*. Mais il peut très bien se faire que les parasites soient différents en liberté.

Nous avons ensuite expérimenté avec les insectes suceurs de sang que l'on prend le plus souvent dans les milieux où vivent les écureuils. Ce furent des *Anophelinæ* (*Myzomyia rossii*, *Myzorhynchus barbirostris*), un grand nombre de *Culicinæ*, des *Tabanidæ* (*Hæmatopota cilipes*, *H. meteorica*, *Chrysops dispar*, etc.,) des *Hippoboscidæ* (*Hippobosca equina*). Nous ne sommes pas arrivé jusqu'ici à un résultat satisfaisant.

Essais de transmission par inoculations. — Gerhardt a montré, en 1880, qu'on donne la fièvre à un homme sain en lui inocu-

lant du sang d'un paludéen. Les expériences de Gerhardt ont été complétées depuis par celles de Mariotti et Ciarrochi, de Marchiafava et Celli. On transmet l'infection aussi bien par voie sous-cutanée que par voie intraveineuse.

Nous avons institué diverses séries d'expériences pour porter la maladie.

1° de l'écureuil à l'homme;

2° de l'homme à l'écureuil;

3° de l'écureuil à l'écureuil;

4° d'écureuil à d'autres Rongeurs et à d'autres animaux.

Disons tout de suite que les résultats ont été négatifs. Toutefois, il ne nous paraît pas inutile d'entrer dans quelques détails.

Au début de nos recherches, la parenté des hématozoaires endoglobulaires de l'écureuil avec les formes analogues de l'homme nous avait paru suffisante pour tenter une inoculation à l'homme. Le détail en a été rapporté dans notre premier mémoire (*l. c.*, p. 228).

Suivant les indications de M. Laveran, nous avons essayé de contaminer des *Sciurus* avec l'hématozoaire humain. Nous avons choisi 2 sujets annamites qui étaient atteints, l'un de fièvre tierce bénigne, l'autre de tropicale maligne. Le sang du premier, retiré de la rate, a été inoculé, à la dose de 0 c. c. 25 sous la peau d'un *Sciurus griseimanus* et d'un *S. vittatus* qui ont été suivis pendant 3 mois et 1 mois. Le sang veineux du second malade a été inoculé, à la dose de 0 c. c. 50 sous la peau de 2 *S. griseimanus* qui ont été suivis l'un pendant 4 mois, l'autre pendant 21 jours.

Les résultats négatifs de ces expériences doivent plaider en faveur de l'individualité des plasmodies de l'écureuil et de leur innocuité vis-à-vis de l'organisme humain.

Déjà nous avions établi que les *Macacus rhesus*, les lapins, les cobayes, les pigeons ne pouvaient pas être infectés; nous avons reconnu depuis qu'il en est de même des rats, des souris, d'un insectivore du genre *Tupaia*.

A l'Institut Pasteur de Paris, le Dr Mathis a tenté vainement d'infecter des *Sciurus vulgaris* par inoculations intraveineuse et sous-cutanée de sang de *Sciurus griseimanus*.

Dans le laboratoire, aussi bien en Extrême-Orient qu'en

France, je n'ai jamais observé de cas de contagion naturelle d'écureuil à écureuil. A Nha-Trang, j'en ai abandonné un certain nombre aux piqûres accidentelles des insectes et des parasites qui se trouvent naturellement dans les parcs et écuries. Ceux qui avaient été reconnus indemnes le sont toujours restés.

On ne pourra réellement savoir s'il y a, chez ces derniers animaux, une immunité quelconque que lorsqu'on saura reproduire artificiellement la plasmodiose sciurine. Toujours est-il qu'*in vitro* le sérum d'un animal indemne est inactif vis-à-vis de la plasmodie.

Études sur les cellules pigmentaires des vertébrés

Par E. GOLOVINE

(avec la pl. XXI)

Dans sa première étude biologique sur la vieillesse, consacrée au mécanisme du blanchiment des cheveux et des poils, M. le professeur Metchnikoff a démontré que ce processus, comme beaucoup d'autres d'atrophie sénile, est provoqué par la phagocytose [1].

D'après les observations de l'auteur, quelques-uns des éléments de la couche médulaire des poils et des cheveux, au début de leur décoloration, commencent à s'immobiliser et à passer dans la couche corticale, alors que les autres, prenant une forme arrondie, s'insinuent dans les cellules avoisinantes qui ont conservé leur forme fusiforme primitive.

Simultanément, dans les parties périphériques de ces poils en voie de décoloration, apparaissent de nombreuses cellules pigmentées de forme extrêmement variées : rondes, ovales, allongées et souvent même ramifiées, présentant alors des éléments d'un aspect parfois tout à fait bizarre.

L'auteur a remarqué que, avec l'apparition de ces cellules ramifiées, coïncide la disparition de grains de pigment dans le reste du poil. Enfin l'auteur a rencontré aussi des amas de ces cellules pigmentées dans le bulbe des poils décolorés et même dans les tissus conjonctifs environnants.

Toutes ces données ont amené M. Metchnikoff à conclure que, dans de certaines conditions, qui ne sont pas du tout définies encore, peut-être sous l'influence de certaines substances toxiques, une partie des cellules pigmentaires se met en mouvement, commence à dévorer les grains de pigment des cellules voisines et à les transporter en dehors des poils en se transforment ainsi en éléments cellulaires qui présentent une forme tout à fait nouvelle de phagocytose : ce sont, selon l'auteur, de véritables pigmentophages, car ils ont acquis la propriété de dévorer exclusivement les grains de pigment sans altérer toutes les autres parties des cellules pigmentaires.

1. Metchnikoff (E.), Études biologiques sur la vieillesse. I. Sur le blanchiment des cheveux et des poils. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1901.

Selon tout apparence. cette propriété de transformation en pigmentophages n'est pas seulement propre aux cellules de la couche médulaire, mais aussi aux éléments de la couche corticale. Bien que la transformation de ces derniers n'ait pas été constatée par M. Metchnikoff, il la considère cependant comme possible, car on observe également le blanchiment dans les poils privés de couche médulaire.

Ces données de l'auteur, tout à fait nouvelles et inattendues, incitent à l'étude de toute une série de questions intimement liées à la fonction des cellules pigmentaires chez divers animaux. Et, naturellement, il était tout d'abord intéressant d'étudier l'action des diverses toxines sur les cellules pigmentaires des différents vertébrés.

Grâce à l'obligeance de M. le professeur Metchnikoff, nous avons pu entreprendre l'étude de cette question, pendant l'été de 1904, dans son laboratoire à l'Institut Pasteur. Nous y avons étudié l'influence des toxines sur les cellules pigmentaires des amphibies et des reptiles. Ensuite nous avons poursuivi ces observations dans notre laboratoire de Kazan sur des poissons et des mammifères.

Au cours de ces recherches, nous avons été obligés de nous occuper ainsi de certaines questions sur la structure des cellules pigmentaires et sur leurs rapports avec les différents tissus.

Dans l'article actuel, qui présente la première partie de notre travail, nous nous bornerons seulement à y exposer les résultats obtenus pendant l'étude des cellules pigmentaires des poissons, des amphibies et des reptiles, notamment d'un seul groupe de ces cellules, les mélanophores. Ce sont justement ces cellules, et elles seules, que M. Metchnikoff a constamment en vue quand il parle des grains de pigment et des cellules pigmentaires.

I

MÉLANOPHORES DES POISSONS, DES AMPHIBIES ET DES REPTILES.

1. — *Structure des mélanophores.*

On sait que les mélanophores des vertébrés inférieurs sont munis de nombreuses expansions et ont, en général, une forme

étoilée. Bien que leur structure ait été étudiée plus d'une fois, reste à résoudre néanmoins l'importante question suivante : les mélanophores sont-ils capables ou non de changer leur forme extérieure ; leur forme étoilée est-elle fixe, ou peuvent-ils, comme les amibes, étendre et rentrer leurs expansions ?

Les premières recherches faites sur ces éléments ont répondu affirmativement à la question. On a comparé les mouvements des mélanophores à ceux des amibes. Mais après les observations de Brücke [1] sur le changement de la couleur des caméléons, cette opinion a été presque abandonnée. La majorité des auteurs : Virchow [2], Harless [3], Lister [4] et autres partageaient l'opinion de Brücke en ce sens que les mélanophores ne changent pas leur forme extérieure, ne rentrent pas leurs expansions et ne font que manifester le mouvement des grains de pigment dans l'intérieur des cellules.

En conséquence de divers facteurs, le pigment tantôt s'accumule au centre de la cellule en forme de boule, tantôt s'étend en elle et en ses expansions. Néanmoins plusieurs auteurs, comme Axmann [5], par exemple, continuaient à soutenir l'opinion ancienne, qui fut surtout défendue par Leydig, dans ses travaux de 1853, 1876 et 1889 [6].

Parmi les nouveaux auteurs, les uns, comme Biedermann [7], à qui nous devons les recherches les plus approfondies sur la fonction des cellules pigmentaires, laissent cette question ouverte, tandis que les autres, comme Ballovitz [8], continuent à défendre énergiquement la vieille opinion de Brücke. Ainsi la question doit être considérée comme à résoudre.

1. Brucke (E.), Untersuchungen über den Farbenwescksel des africanischen Chamäleons, *Deutschr. d. k. Ak. d. Wissenschaften zu Wien. Math.-natur. Kl.*, Bd. IV, 1852.
2. Virchow (R.), Chromatophoren beim Froch, *Virchow's Arch. f. pathol. Anat.* Bd. VI, 1854.
3. Harless (E.), Uber die Chromatophoren des Froches. *Zeitchr. f. Wissen. Zool.* Bd. V, 1854.
4. Lister (J.), On the cutaneous pigmentary system of the frog, (commun. by Dr. Sharpey), *Philosoph Tansaction of the royal. Soc of. London.* Vol. 148. *For the year.* 1858. London, 1859.
5. Axmann, Beitrage zur mikroscopischen Anatomie und Physiologie des Gänglienneren systems, 1853.
6. Leydig (F.), Anat.-histolog. Untersuchungen über Fischen und Reptilien, Berlin, 1853. — Uber die allgemeine Bedeckungen der Amphibien. *Arch. f. mikz. Anat.* Bd. XII, 1876. — Pigmente der Hautdecke und der Iris, *Verch. d. physik. med. Ges. g. Würzburg.* Bd. XXII, 1889.
7. Biedermann (W.), Uber den Farbenwechsel der Frösche, *Pflüger's Archiv.*, Bd. V, 1892.
8. Ballowitz (E.), Die Nervendigungen der Pigmentenzellen. Ein Beitrag zur Kentniss des Zusammehanges, etc., *Zeitschr. für Wissensch. Zool.*, bd. LVI, 1893.

En mettant en regard toutes les objections dirigées contre les observations qui démontrent la faculté des mélanophores de se contracter, il est facile de se convaincre que, sauf les considérations théoriques dont nous parlerons plus bas, toutes les objections sont fondées sur les données suivantes : 1° chez les mélanophores qui ont ramassé leur pigment au centre, on voit des expansions libres de grains de pigment ; 2° l'étude de ces expansions présente une difficulté très grande à cause de leur transparence, car elles peuvent alors facilement échapper à l'observation.

En effet, si l'on étudie les cellules pigmentaires à l'état vivant, ou à l'aide des méthodes qui ont servi aux auteurs cités ci-dessus, il est presque impossible de distinguer le protoplasma de leurs expansions de celui des tissus avoisinants, même quand ils contiennent de petites quantités de grains de pigment. Le plasma des expansions est tellement transparent et finement granulé, que les grains de mélanine qui s'y trouvent paraissent être en dehors de la cellule pigmentaire.

Cependant les méthodes de coloration de la technique microscopique actuelle, nous donnent le moyen de faire ressortir, avec la netteté voulue, n'importe quelle partie de cytoplasma et de résoudre ainsi cette question sans grande difficulté.

Dans ce but nous avons étudié les mélanophores de la perche, du brochet, de la truite, du gardon ; des *Hyla arborea*, *Rana esculenta*, *Rana temporaria* ; du *Triton cristatus* ; du *Cameleo vulgaris*.

Dans ces recherches, nous nous sommes servi des préparations de fragments de peau et des coupes transversales. Les premières sont surtout favorables à l'étude des mélanophores des poissons, tandis que les secondes conviennent à l'étude des mélanophores des grenouilles, des tritons et des caméléons. Pour la *Hyla arborea*, les deux méthodes sont également bonnes.

Pour faire ressortir les expansions protoplasmiques des mélanophores, ce sont les colorations combinées ainsi que les colorations suivies de lavage qui nous ont donné les meilleurs résultats. L'essai de nombreux procédés nous a toujours donné le même résultat : quand les mélanophores ont une forme étoilée, le protoplasma des expansions, dans les parties

dénuées de pigment, ressort très nettement. Dans les cas où le pigment des mélanophores se ramasse en boule et que la cellule à l'état vivant prend une forme arrondie, les mêmes méthodes de coloration démontrent parfaitement bien qu'il n'y a pas une seule expansion libre de pigment autour des mélanophores.

Par conséquent, à l'excitation, non seulement les grains de pigment s'accumulent au centre de la cellule, mais encore toute la cellule se contracte en faisant rentrer ses expansions absolument comme le font les amibes avec leurs pseudopodes.

Sous ce rapport, ce sont les coupes transversales de la peau du caméléon qui sont surtout convaincantes. Les mélanophores de ce dernier présentent, comme on le sait, non une forme étoilée aplatie, mais une forme en buisson, parce que le corps de la cellule gît profondément dans le corium, toutes les expansions se dirigent exclusivement vers la périphérie. Quand les expansions sont étendues, alors, comme on le voit sur la figure 3, Pl. XXI, ils se rapprochent vers l'épiderme, à travers des fissures intercellulaires spéciales. Dans ce cas, étant donnée une coloration appropriée, leur protoplasma, même dans les parties pauvres en grains de pigment, peut s'observer très nettement. Si nous provoquons une contraction des mélanophores et si, immédiatement après, nous traitons par un fixage rapide la partie correspondante de la peau, on peut voir alors sur les coupes que les mêmes espaces intercellulaires ne contiennent aucune trace de protoplasma (fig. 5).

L'examen des mélanophores à l'état vivant, chez des animaux comme les caméléons, *Rana esculenta*, *Rana temporaria*, *Triton cristatus*, etc., est extrêmement difficile à cause de l'épaisseur de leur peau. Mais, par contre, ils sont faciles à observer chez la *Hyla arborea*, dans les parties de la peau où se termine la région d'extension de ces cellules, par exemple dans les parties latérales du tronc et des extrémités postérieures ; de même chez les poissons, dans les fragments de la peau prise dans la région frontale ou operculaire. A ce genre d'observation, conviennent également très bien les embryons de certains poissons, par exemple la perche, le brochet ou la truite. Chez les embryons du brochet, 3 ou 4 jours après leur éclosion, toute la surface de la vésicule vitéline est recouverte

de gros mélanophores. En mettant un pareil embryon dans un tube en verre de diamètre approprié et y laissant passer de l'eau, on peut alors observer, pendant des heures entières, les mouvements des mélanophores. Dans ces conditions, on les voit très distinctement faisant les uns rentrer, les autres sortir leurs expansions, et en même temps s'étendre eux-mêmes dans diverses directions et changer ainsi constamment leur forme extérieure. Pendant ces mouvements, souvent leurs expansions se soudent entre elles: d'un autre côté, se soudent aussi entre elles les expansions des cellules voisines, formant ainsi un syncytium de 2, 3 et même 4 cellules (fig. 2, 4, 6). Dans certains cas, cette liaison est si intime que les cellules soudées, peuvent être prises, à première vue, pour un mélanophore géant.

Dans les mêmes conditions d'observation, on peut voir que les expansions d'un mélanophore complètement dilaté sont relativement très courtes et que le pigment s'étale très régulièrement dans le corps de la cellule. En fixant le mélanophore dans cet état et en le colorant, il est facile de se convaincre que le corps de la cellule est formé d'un protoplasma continu. Ballovitz a observé des orifices dans le corps des mélanophores. Vu le grand intérêt que présente cette observation, nous avons étudié, de notre côté, une grande quantité de mélanophores à cet état d'extension, mais nous n'avons jamais pu observer de perforation. Il est vrai qu'on peut souvent remarquer, comme on le voit sur la figure 2, des orifices (o) dans le corps des mélanophores très ramifiés, mais ces orifices n'ont naturellement aucun rapport avec leur structure.

En suivant la formation des pseudopodes des mélanophores, il est facile de se convaincre que la contraction et la dilatation du protoplasma se produit constamment dans toutes ses parties. Simultanément, se produisent la rétraction et l'expansion du pigment. Ainsi, par exemple, dans un pseudopode très dilaté et, par conséquent, devenu presque transparent, son extrémité seule peut se contracter, et alors il prend une forme arrondie en devenant complètement noir. En même temps la partie médiane de l'expansion peut se dilater à un tel point que son extrémité paraît être séparée du corps de la cellule. Dans d'autres cas, c'est seulement la partie médiane de l'expansion qui com-

mence à se contracter, ou rien que les parties périphériques.

On voit souvent les expansions rester à demi translucides et c'est alors le corps seul de la cellule qui se contracte, en prenant dans ce cas une coloration tout à fait noire; ou bien ce n'est qu'une partie de la cellule qui se contracte en faisant simultanément rentrer aussi ses expansions, etc. Ces variations peuvent aller à l'infini.

Cependant, durant tous ces changements nous n'avons jamais pu observer le mouvement des grains de pigment dans les parties intérieures de cytoplasma, mouvement mentionné par Brücke et d'autres auteurs. Du reste, aucun d'eux n'a donné de description détaillée de ce phénomène, et il est bien probable que ce sont les divers déplacements de ce pigment, déterminés dans les mélanophores par les contractions variées indiquées plus haut des différentes parties de leur cytoplasma, qu'on a pris pour le mouvement du pigment.

2. — *Rapport des mélanophores au système nerveux.*

C'est à Leydig[1] que nous devons la première tentative de détermination des relations anatomiques entre les mélanophores et le système nerveux, dont l'existence paraissait être établie indiscutablement par les observations physiologiques de Brücke, v. Wittich, Virchow, Lotar Meyer, Lister, Pouchet, P. Bert, Krukenberg, Leydig et d'autres, et récemment par Biedermann. Sur les fragments de peau fortement macérée de *Lacerta agilis*, Leydig a réussi à dégager la couche pigmentaire sous la forme de fine pellicule et à y observer « un magnifique réseau nerveux formant des mailles polygonales ». Des points d'intersection de ce réseau partaient des fibres nerveuses, dont une partie se dirigeait vers la périphérie tandis que l'autre s'unissait aux mélanophores. Ce même passage immédiat des fibres nerveuses dans le plasma des cellules pigmentaires a été aussi observé par Leydig chez les serpents.

1. Leydig F., Die in Deutsch. land lebenden Arten der Saurien, Tubingen, 1872. — Über die allgemeinen Bedeckungen der Amphibien, *Arch. f. Micr. Anat.* Bd. XII, 1876. — Über die äusseren Bedeckungen der Reptilien u. Amphibien Neue Beiträge, *Arch. f. Micr. Anat.* Bd. IX, 1873.

Ehrmann[1], puis Lode[2], employant une méthode d'investigation plus perfectionnée, à savoir la méthode au sel d'or, essayaient, de leur côté, de prouver que ce même passage immédiat de la substance des fibres nerveuses au plasma de la cellule pigmentaire a lieu aussi chez les grenouilles et les poissons. Lode a même vu la pigmention dans les terminaisons des fibres nerveuses, ce qui, d'après son opinion, apparaît comme « une preuve certaine de la transition graduelle de la substance contractile dans la fibre nerveuse ».

Enfin, de nos jours, Ballowitz, en traitant des fragments de la peau de divers poissons — brochet, perche, hareng, dorsch, anguille, gardon, etc., par la méthode de Golgi, modifiée par Ramon y Çajal a vu également l'innervation des mélanophores. Cette méthode a permis à l'auteur d'observer comment, vers chaque mélanophore, s'approchent une, plusieurs ou parfois même un très grand nombre de fibres nerveuses, tantôt fines, tantôt assez grosses. Aux environs de la cellule pigmentaire, chacune de ces branches se bifurque en une immense quantité de minces fibrilles qui, avec une imprégnation bien réussie, forme un tel « écheveau » que, d'après l'auteur lui-même, on ne peut rien y distinguer. Sur les préparations insuffisamment colorées, et par suite plus distinctes, l'auteur a remarqué comment une partie de ces fibrilles s'approchent du mélanophore et se ramifient en des filaments variqueux aussi bien sur sa surface supérieure que sur l'inférieure. Mais la majorité des fibres nerveuses se dirige vers la périphérie et forme, là aussi, un réseau dont les terminaisons nerveuses ou bien atteignent les papilles cutanées, ou se terminent entre les éléments épithéliaux. Là où les mélanophores sont rapprochés les uns des autres, comme, par exemple, dans la peau des régions buccales de la perche, les fibres nerveuses se dirigent vers l'épiderme, partant directement de la masse des fibrilles nerveuses qui entourent la cellule pigmentaire.

Ainsi, d'après les observations de Ballowitz, il se forme autour du mélanophore, pour ainsi dire, deux plaques de terminaisons nerveuses. Cependant ces plaques ne sont pas séparées

1. Ehrmann (S.), Über die Nervendigungen in den Pigmentzellen der Froschhaut. *Sitz. d. Akad. d. Wissenschaft. zu Wien. M. = N. Kl.* Bd 84, III Abt. 1881.

2. Lode (A.), Beiträge zur Anat. und Physiol. des Farbenwechsels der Fische, *Sitz. d. Akad. d. Wiss. zu Wien.* Bd. LXXXXIX, 1890.

l'une de l'autre, elles sont unies par des ramifications multiples perforant le corps du mélanophore. Si, sans colorer les nerfs, on fixe simplement les mélanophores par la liqueur de Flemming, alors, même sur de pareilles préparations, on peut voir, dans le corps des mélanophores, de petits orifices nettement découpés. Il y en a parfois plusieurs dans une même cellule.

« Il n'y a pas de doute, dit l'auteur, que ces orifices soient causés par le passage des nerfs. »

En se basant sur ces données, l'auteur conclut que les mélanophores sont probablement innervés par des fibres spéciales, *fibres motrices*, selon lui, qui s'approchent des mélanophores avec les nerfs sensitifs de la peau.

Les recherches de Ballowitz, si différentes de tout ce qui avait été découvert dans ce sens par les auteurs précédents, qui, comme le remarque très justement Ballowitz, n'ont même pas vu de terminaisons nerveuses autour des mélanophores, — ces recherches ont été confirmées ensuite par Ebert et Bunge [1]. Les résultats obtenus presque en même temps par ces derniers étaient, en somme, analogues. Ces auteurs se sont servi également de la méthode d'imprégnation et ont aussi remarqué que, sur la surface des mélanophores, les terminaisons nerveuses se répandent sous forme de filaments variqueux, mais ils n'ont jamais vu les fibres nerveuses traverser le corps du mélanophore. De plus, ces auteurs ont trouvé que, outre les filaments variqueux distribués sur la surface des mélanophores, des mêmes ramifications part toute une série de filaments variqueux pareils, se disposant entre les mélanophores et n'ayant avec ces derniers aucun rapport.

Vu l'extrême importance des observations de Ballowitz et de Eberth et Bunge, dans toute une série de questions ayant trait à celle de l'innervation des mélanophores, nous nous sommes efforcés de vérifier avec le plus grand soin les observations de ces auteurs.

Pour éliminer les terminaisons nerveuses, nous nous sommes servis : 1° de la méthode au sel d'or et de celle de Ranvier (au jus de citron); 2° des méthodes d'imprégnation qui ont été

1. EBERTH und BUNGE, Die Nerven der chromatophoren, *Arch. f. Microsc. Anat.*, t. XXXVI, S. 370, 1895.

employées par les auteurs mentionnés ci-dessus; 3° de la coloration vitale au bleu de méthylène.

C'est cette dernière méthode qui nous a donné les meilleurs résultats, tant au point de vue de la totalité de la coloration des terminaisons nerveuses que de la clarté de l'image. Mais nous avons aussi beaucoup employé les deux autres procédés pour obtenir, en vue du contrôle et de la comparaison, les mêmes images qui avaient été obtenues par les auteurs précédents.

Parmi les poissons que nous avons examinés, c'est la perche qui s'est trouvée la plus appropriée à cette étude, surtout pour les colorations vitales au bleu de méthylène. Comme jusqu'à présent cette coloration n'avait pas encore été appliquée à l'élimination des terminaisons nerveuses des mélanophores. nous croyons utile de donner ici quelques indications techniques sur l'application de cette méthode.

Après de nombreuses expériences, nous avons trouvé qu'on peut obtenir une coloration complète des nerfs de la peau en employant des injections sous-cutanées. Ni les injections des vaisseaux, ni la coloration des fragments de la peau par les solutions faibles de bleu de méthylène ne nous ont donné de résultats satisfaisants.

Pour les injections sous-cutanées. il est préférable de prendre la peau de l'appareil operculaire. Pour obtenir une bonne coloration, il est indispensable d'injecter exactement la quantité nécessaire de colorant. Comme cette quantité varie avec chaque objet, nous avons, comme règle générale, suivi la marche que voici : nous nous servons toujours d'une solution saturée de bleu de méthylène dans l'eau distillée et nous injectons le colorant en introduisant l'aiguille (N° 16-18) de la seringue dans la partie inférieure de la joue de la perche (en la dirigeant vers le côté dorsal), évitant l'apparition du colorant dans la région inférieure de l'œil et que ce dernier ne fasse saillie bien distinctement. On met ensuite le poisson injecté dans l'aquarium à eau courante (8°-10°) et on l'y garde pendant 1 h. 40 — 2 heures.

Si l'on introduit une quantité de colorant moindre à celle indiquée plus haut, ou qu'on tienne dans l'aquarium la perche injectée un laps de temps plus court, ce ne sont alors que les

gros rameaux qui se coloreront, et, autour des mélanophores, les nerfs ou ne se coloreront pas du tout, ou seuls les épaississements variqueux se teinteront. En introduisant sous la peau une quantité de colorant plus grande que celle indiquée ci-dessus, ce sont alors les tissus environnants qui se colorent presque en même temps que les nerfs. Enfin si l'on augmente le temps de coloration, une partie des nerfs commence à se décolorer.

Pour les autres poissons, les conditions de coloration sont autres. Ainsi, avec le brochet par exemple, il faut moins de temps pour obtenir la coloration de ses terminaisons nerveuses. Avec ce poisson nous avons aussi obtenu plusieurs fois une coloration complète des nerfs en introduisant le bleu de méthylène sous la peau de la région frontale ; mais malheureusement, faute de quantité suffisante de matériel, nous n'avons pu élucider les conditions de coloration complète avec la même exactitude qu'avec la perche. Il est indispensable enfin d'ajouter qu'à une température plus élevée, la coloration devient très irrégulière. Ainsi, à la température de 15° — 18°, nous ne sommes déjà plus arrivés à éliminer entièrement les réseaux nerveux.

On peut fixer la coloration au bleu de méthylène ou par le picrate d'ammoniaque, selon le procédé de M. Smirnoff [1] et monter la préparation à la glycérine, ou la fixer par le sublimé, avec le molybdate d'ammoniaque comme nous l'avons indiqué pour les cellules phagocytaires des nématodes [2]. Comme, dans le cas donné, on est obligé d'étudier exclusivement des fragments de la peau et non pas les coupes, c'est le premier procédé de fixage qui est préférable, comme étant le plus simple et le plus rapide. De plus, les préparations à la glycérine sont beaucoup plus transparentes que celle au baume de Canada, et en même temps elles sont plus commodes, en ce sens qu'on peut les tourner et les examiner des deux côtés, ce qui est très important dans beaucoup de cas.

En traitant la peau par la méthode de Ramon y Cajal, nous n'avons jamais pu obtenir une coloration aussi complète des réseaux nerveux qu'en employant le bleu de méthylène. En

1. Smirnoff (A.), *Matériaux pour l'histologie du système périphérique des batraciens*, Kazan, 1891 (en russe).

2. Golovine (E.), *Recherches sur les nématodes*, I. Organes phagocytaires, Kazan, 1901 (en russe).

outre, les préparations obtenues par cette méthode sont très grossières. Il est intéressant à noter qu'en l'employant ce sont tout d'abord les épaississements variqueux qui s'éliminent et ensuite seulement les parties des fibrilles nerveuses qui les unissent. Il arrive très souvent alors que les varicosités seules se colorent. On voit souvent aussi s'éliminer rien que des parties de fibrille.

Nous avons également essayé la méthode au sel d'or, non seulement sur les poissons, mais encore sur le *Hyla arborea* et sur les caméléons, elle ne nous a pas donné de résultats satisfaisants : les fines ramifications ne se dégageaient presque pas.

Bien que les préparations au bleu de méthylène, contrairement à ce qui s'obtient avec l'imprégnation, donnent des images parfaitement nettes et distinctes, néanmoins, vu la grande quantité des fibrilles nerveuses entourant les mélanophores, leur étude présente un travail assez compliqué et minutieux. Nous avons examiné une assez grande quantité de semblables préparations et nos recherches relatives à la partie la plus essentielle de la question, c'est-à-dire celle de la distribution des terminaisons nerveuses sur les mélanophores, nous ont conduit à des conclusions tout à fait opposées à celles de Ballovitz et de Eberth et Bunge. Sur les préparations à coloration complète, nous n'avons jamais pu remarquer que les terminaisons nerveuses se répandissent sur les mélanophores. Nous n'avons également jamais vu leur cytoplasma perforé par les fibrilles nerveuses.

Comme nous le démontre la figure 1 sur laquelle nous avons représenté toutes les fibres nerveuses entourant le mélanophore donné, aucune d'elle ne se termine ni sur le mélanophore lui-même, ni près de lui. Si nous suivons la marche d'une de ces fibrilles, on peut presque toujours se convaincre qu'elle se dirige vers la périphérie et se termine dans l'épiderme, comme l'ont indiqué fort exactement Ballowitz et Eberth et Bunge pour la plupart des fibrilles entourant les mélanophores.

La coloration étant incomplète, ce ne sont que des régions séparées de la fibrille qui se colorent et tout d'abord leur varicosité. C'est pourquoi la fibrille incomplètement colorée s'arrête toujours à l'épaississement variqueux.

Le même phénomène se remarque dans les préparations faites par la méthode de Golgi. Là aussi ce sont les épaississements variqueux qui s'éliminent les premiers, puis les parties qui les unissent. En appliquant cette dernière méthode, nous n'avons jamais pu éliminer les fibrilles nerveuses aussi nettement qu'avec le bleu de méthylène, et nous n'avons jamais pu dégager le réseau des filaments variqueux par la méthode au sel d'or.

C'est dans cette propriété des épaississements variqueux de se colorer avant les autres parties des fibres nerveuses que réside, à notre avis, la cause des dissemblances entre nos résultats et ceux de Ballowitz et de Eberth et Bunge.

Il est tout à fait évident que les terminaisons nerveuses que ces auteurs ont vues et dessinées d'après les préparations insuffisamment colorées ne présentent que des fibrilles variqueuses insuffisamment teintées. Les appareils terminaux qu'ils ont présentés dans leurs figures sont des épaississements variqueux en partie déformés par le précipité d'argent. Eberth et Bunge ont avec raison considéré comme suspectes ces terminaisons nerveuses, et fort justement les ont indiquées dans leurs figures avec un point d'interrogation (*loc. c.*, fig. 4, t. XVIII).

Il n'y a pas le moindre doute que toutes les fibrilles nerveuses éliminées auprès des mélanophores par Ballowitz (Eberth), et Bunge, et nous, à l'aide de différentes méthodes, présentent les mêmes nerfs sensitifs cutanés que les nerfs qui se trouvent entre les cellules pigmentaires. De cette façon, les mélanophores n'ont aucun lien anatomique avec les terminaisons nerveuses, et par conséquent sont des formations tout à fait indépendantes du système nerveux.

Cependant le système nerveux, comme le démontrent sans le moindre doute, les observations physiologiques, influe sur les mélanophores. Nous verrons plus loin qu'on peut donner à ce phénomène une explication tout à fait différente de celle des auteurs précédents.

3. — *Action des toxines sur les mélanophores.*

Dans la série des expériences que nous allons exposer, relativement à l'action des toxines sur les mélanophores, nous nous sommes servi exclusivement de celles qui proviennent de

cultures bactériennes pures. Nous avons eu principalement en vue d'éclaircir leur action directe et immédiate sur les cellules pigmentaires. C'est pourquoi, dans cette série, ne sont groupées que les expériences dans lesquelles nous nous sommes servi des toxines non diluées, filtrées ou non et que nous avons introduites exclusivement sous la peau.

Toxine diphtérique. — Lorsqu'on introduit sous la peau d'un caméléon gris foncé 1/2 c. c. de toxine diphtérique filtrée, quelques secondes après, la partie de la peau qui couvre la pustule formée commence peu à peu à s'éclaircir et, une minute après, la tache formée autour de la piqûre prend la coloration blanc jaunâtre que la peau de l'animal revêt après la mort. La partie de la peau devenue blanche est nettement délimitée par la surface de la pustule. Pendant les premières 8-10 heures, elle n'éprouve aucune modification. Environ 17 heures après, la pustule s'agrandit un peu à cause de la résorption de toxine; la peau qui la recouvre continue à conserver sa coloration blanche. 23 heures plus tard, la tache devient plus foncée et à l'aide d'une forte loupe on peut voir apparaître des points noirs, dans les tubercules isolés de la peau. Pendant les heures suivantes, le nombre de ces tubercules augmente, les points noirs commencent à apparaître aussi entre eux. Environ deux jours après le commencement de l'expérience, la partie injectée de la peau reprend la coloration normale. L'expérience avec les toxines diphtériques fut faite sur 3 sujets en présence d'un quatrième de contrôle. A ce dernier, ainsi qu'à l'un de ceux injectés par la toxine, nous avons introduit sous la peau, du côté opposé, 1/2 c. c. de bouillon pur. Une minute plus tard on pouvait remarquer chez ces deux animaux un faible blanchiment de quelques tubercules isolées autour de la piqûre. Au bout de dix minutes, plusieurs des tubercules commencèrent à foncer, et, 1 h. 20 après, la partie de la peau injectée avait repris sa coloration antérieure.

Si l'on expose un caméléon inoculé par la toxine diphtérique à la lumière directe, après que la tache formée autour de la piqûre est nettement ressortie, alors sa peau, comme celle du caméléon de contrôle commence à blanchir 1 h.-1 1/2 après, et la tache disparaît. Portés ensuite à l'ombre, les 2 caméléons

deviennent, peu après, de nouveau foncés et chez l'exemplaire injecté la tache réapparaît.

Si on renouvelle la même expérience quand la tache produite par la toxine diphtérique a disparu, durant les quelques premières heures la partie injectée de la peau réagit très lentement et n'atteint jamais un blanchîment complet. Beaucoup de tubercules sur sa surface restent foncés, et chez les caméléons blanchis, ils apparaissent sous forme de tache grise. Le 3e jour, la partie de la peau injectée se remet complètement et commence à changer de coloration comme le reste de la peau.

Sur les coupes de peau soumises à l'action de la toxine, dans le courant des 3 premières heures, on peut voir que les mélanophores se sont contractés et ont fait rentrer presque toutes leurs expansions: celles qui restent sont devenues beaucoup plus courtes, et aucune d'elles n'envoie ses expansions vers l'épiderme.

En somme, c'est le même tableau que celui que présentent les mélanophores sur les coupes de la peau d'un caméléon mort.

Les coupes de la peau prises dans la partie injectée, 24 heures après l'injection, quand des tubercules séparés ont commencé à y foncer, démontrent que quelques mélanophores sont restés à l'état de contraction, tandis que chez d'autres ont apparu des expansions ramifiées et dans quelques tubercules ces expansions atteignent l'épiderme.

Chez les amphibies, la toxine diphtérique provoque le même effet que sur le caméléon, mais d'une façon moins nette. Son action cependant, se manisfeste chez ces animaux aussitôt après l'injection. Si l'on introduit sous la peau de la *Hyla arborea* d'une coloration brune, 1/2 c. c. de cette toxine, on voit, autour de la piqûre, la peau commencer aussitôt à prendre une coloration verte, et dans la plupart de nos expériences, cette coloration devenait d'un vert vif, quelques minutes après.

Plusieurs de ces *Hyla* colorées en vert gardaient ensuite cette coloration pendant très longtemps: les autres prenaient leur coloration ancienne, d'un brun foncé, 40-50 minutes après le commencement de l'expérience. Chez la *Hyla* à la peau verte, la toxine diphtérique ne produisait aucun changement dans la couleur, même si l'on introduisait sous la peau des

quantités relativement très grandes de toxine, 1 1/2 à 2 c. c.

Contrairement à ce qui s'observe chez les caméléons, cette toxine ne provoque pas, chez les animaux mentionnés plus haut, cette coloration d'un jaune pâle, que l'on remarque chez eux après la mort, c'est-à-dire que, comme le démontrent aussi les coupes transversales de la peau, cela ne provoque pas, chez les mélanophores, une rétraction complète de leurs expansions, quoique les cellules pigmentaires isolées prennent une forme arrondie.

Chez la *Rana esculenta* et la *Rana temporaria*, la toxine diphtérique ne produit pas de changement aussi fort dans la coloration que celui qu'on observe chez les caméléons et la *Hyla*, mais cela s'explique par l'extrême accumulation des mélanophores. Là où ils sont plus rares, par exemple sur la peau des régions latérales, on peut voir très clairement que les mélanophores commencent à rétracter leurs expansions aussitôt après l'injection de la toxine, et quelques-uns d'entre eux, 40 à 50 minutes après, prennent déjà une forme arrondie, bien que la plupart des mélanophores continuent à garder de courtes expansions.

Chez le *Triton cristatus*, même avec des injections nombreuses, cette toxine n'agissait pas d'une façon apparente sur les mélanophores.

Chez la perche et le brochet, la toxine diphtérique provoque une contraction presque momentanée des mélanophores (fig. 9), qui, cependant, 24 heures après, prennent leur aspect normal.

La perche supporte très bien les injections répétées de grandes quantités de toxine diphtérique. Quelques exemplaires auxquels nous injections journellement de cette toxine sous la peau de la joue, par 1/2 c. c. — quantité qui provoque un effet immédiat — ont survécu dans notre aquarium plus de deux mois (du milieu d'octobre presque au milieu de décembre); mais chez ces exemplaires, comme chez ceux que nous primes dans cet intervalle pour les préparations, les mélanophores n'ont manifesté aucun changement, excepté ceux désignés plus haut.

Toxine tétanique. — Nous avons étudié l'action de cette toxine sur des caméléons et des *Hyla*. Pour les injections sous-cutanées nous avons employé aussi bien la toxine filtrée

que la culture et, dans les deux cas, nous avons obtenu des résultats tout à fait analogues. Les mélanophores des caméléons se contractaient presque instantanément après l'introduction de la toxine (1/2 c. c.) et la tache formée avait tout à fait le même aspect qu'avec la toxine diphtérique.

Dix minutes après, la tache s'étendait fortement, et, si la piqûre était produite sur l'un des côtés du caméléon, alors, après le délai indiqué, toute la partie correspondante du corps de l'animal prenait une coloration d'un jaune pâle. Après vingt-quatre heures, la tache commençait à disparaître et alors, comme dans les cas précédents, sur le côté blanchi de l'animal, quelques tubercules isolées de la peau se fonçaient; ensuite les autres parties prenaient une coloration foncée. Deux jours après, disparaissaient les dernières traces de la tache et débutait la contracture de la partie injectée. Sur les coupes transversales de la peau, prise dans la tache blanche qui s'était formée, et aussi après qu'elle eût commencé à foncer, les mélanophores apparurent exactement dans le même état qu'après l'injection de la toxine diphtérique.

Chez la *Hyla arborea*, la toxine tétanique provoque une contraction relativement faible des mélanophores. Une minute après l'injection à des exemplaires d'un gris foncé de 1/2 c. c. de toxine ou de culture, on peut observer une faible coloration verte, qui disparaît totalement 70 à 80 minutes plus tard. Ce qui est intéressant, c'est qu'après la disparition de la coloration verte, la *Hyla* prenait une coloration encore plus foncée qu'auparavant. Si l'on injecte cette toxine (1/2 c. c.) sous la peau des *Hyla* vertes, dans les premières minutes après l'introduction de la toxine on n'observe aucun effet, mais peu à peu, sur la surface de la pustule, commencent à apparaître des taches d'un brun clair. Deux ou trois heures plus tard, ces taches deviennent brun foncé. Les *Hylas* gardaient cette coloration durant deux journées, puis commençaient à changer de couleur de la même manière que les exemplaires de contrôle.

Vibrio Metchnikovi. — Pour l'injection nous avons employé, dans les expériences suivantes, exclusivement des cultures sur bouillon. Le maximum de l'effet s'obtenait déjà dès l'introduction sous la peau d'un 1/4 c. c. et, par la rapidité de l'action sur les mélanophores, la toxine de cette culture, parmi celles

que nous avons étudiées, se trouva, avec la culture tétanique, être la plus violente. Les caméléons, étant donnée la quantité de culture indiquée plus haut et même avec une quantité moindre, (1/8 c. c.) périssaient dans 24 à 27 heures. Comme dans les expériences indiquées plus haut, dans ce cas également, autour de la place injectée, se formait une tache d'un blanc jaune, qui restait telle durant 18 à 20 heures, puis une partie des tubercules de sa surface commençait à foncer. Après la mort, ces tubercules noircis devenaient de nouveau aussi clairs que le reste de la peau. Sur les coupes transversales de la partie tachée de la peau on pouvait voir que, parmi les mélanophores, quelques-uns seulement avaient gardé leurs expansions, et ceux-là même sont devenus épais et courts en perdant toutes leurs ramifications périphériques.

Chez la *Hyla*, cette culture provoque aussi un effet brusque et immédiat. Déjà, en injectant sous la peau des *Hylas* brunes 3 degrés de la seringue, la peau commence aussitôt à verdir autour de la piqûre. Les *Hyla* se trouvent être encore plus sensibles à cette culture que les caméléons. Elles périssent en 1 h. 1/2-2 heures, non seulement après l'injection de la quantité indiquée plus haut, mais même à l'introduction sous la peau de 1/4 c. c. de cette culture diluée à 1 : 4 d'eau distillée.

Nous essayâmes aussi cette culture sur des tritons, mais elle ne produisit aucun changement dans la coloration. Nous en avons introduit sous la peau d'un des exemplaires 1 c. c., journellement durant une semaine, mais nous n'avons obtenu aucun effet.

Microbacterium tuberculosis. — Nous n'avons étudié l'effet de la toxine tuberculeuse que sur les mélanophores des caméléons. Pour l'injection nous avons employé le bouillon de culture mélangé de bacilles. Avec 1-1 1/2 c. c. de cette toxine introduite sous la peau, la contraction des mélanophores commence à se manifester quelques minutes après l'injection, et, 4-5 minutes plus tard, la tache produite atteint le maximum de blanchiment.

La journée suivante, la tache prend une coloration presque noire et apparaît bien plus foncée que tout le reste de la peau.

Le troisième jour, chez tous les caméléons à l'épreuve, la tache redevint blanche, mais non plus au même degré que dans

les premières heures après l'injection : quelques tubercules de la peau restaient foncés. Les taches gardèrent cette coloration toute la journée suivante, ensuite elles devinrent de nouveau foncées et durant 5 jours conservèrent cette coloration. Un jour après, deux exemplaires périrent et le troisième s'affaiblit tellement que nous résolumes de le sacrifier pour des préparations.

Un de ces exemplaires, pendant les premières heures après l'injection, se trouvait dans une position verticale et immobile. Pendant tout ce temps la pustule qui s'était produite pendant l'injection descendait lentement vers la queue, et, avec elle, la tache blanche changeait aussi simultanément de place. Cette expérience démontre ainsi d'une façon péremptoire que la toxine de cette culture provoque les contractions des mélanophores en n'agissant guère sur eux qu'en quantité considérable. Dès que son action commence à cesser les mélanophores s'étendent rapidement.

Streptococcus. — La culture de ce microbe nous a été gracieusement fournie par M. le docteur Besredka. Nous avons eu la possibilité d'expérimenter son action sur les mélanophores de la *Hyla arborea* et de la *Rana esculenta.* Chez les premières, colorées en brun, cette culture, après l'introduction sous la peau de 1-1/2 c. c., faisait apparaître dans les premières minutes après l'injection un fin pointillé vert. 20 à 25 minutes après, la peau prenait une teinte d'un gris rosé avec un reflet métallique qui, vingt-quatre heures plus tard, se changeait en une coloration olive foncée. Quand cette culture était injectée à des *Hyla* vertes, tout d'abord la peau prenait également une coloration d'un vert foncé, qui dans vingt-quatre heures se changeait de nouveau en vert vif, mais autour de la piqûre restaient de petites taches d'une couleur cendrée qui disparaissaient les journées suivantes.

Outre les toxines désignées ci-dessus, nous avons également essayé l'action du *Vibrio choleræ Koch* (*Cholera asiatica*), du *Bacillus anthracis*, du *B. coli commune*, du venin de serpent et de l'alcool. La culture de *Cholera asiatica*, même à des doses très grandes, 1 1/2-2 c. c., ne provoquait guère, chez les caméléons et les *Hyla*, qu'une faible contraction des mélanophores, tout à fait la même qu'avec le bouillon pur. Une contraction un

peu plus forte, mais de peu de durée, était causée par le charbon, le *B. coli* et le venin de serpent. L'alcool à 50 0/0 provoqua une réaction tout à fait opposée à celle que donnaient les toxines : introduit sous la peau des caméléons à la quantité de 1/2-1 1/4 c. c., il provoquait la formation, à l'endroit de l'injection, d'une tache foncée, qui ne variait et ne réagissait pas à l'excitation par la lumière durant à peu près vingt-quatre heures. Après ce laps de temps la tache prenait une coloration grise, et vers la fin de la seconde journée les traces de l'injection disparaissaient presque.

Ainsi toutes les toxines, qui ont manifesté une action sur les mélanophores, produisent, comme le démontrent les expériences exposées ci-dessus, un seul et même effet : elles agissent en qualité d'excitants qui provoquent la contraction des mélanophores. Leur action est purement locale et l'effet ne s'observe que lorsque la toxine se trouve directement en contact avec les cellules pigmentaires. Dès que la toxine employée commence à être absorbée, les mélanophores se remettent à fonctionner d'une façon normale, mais, pendant qu'elle se trouve en contact avec eux, ils perdent toute faculté de répondre à n'importe quels excitants.

Tous les excitants chimiques des mélanophores étudiés jusqu'à présent peuvent être divisés en deux groupes. A l'un se rapporteront ceux qui, comme quelques toxines examinées par nous, provoquent la contraction de ces cellules; à l'autre, ceux qui, comme l'alcool, par exemple, forcent au contraire les mélanophores à se dilater.

Au nombre des excitants chimiques du premier groupe doivent être rapportées aussi ces substances, encore indéterminées, qui amènent le blanchiment *post mortem* de la peau des poissons, des amphibies et des reptiles. Leur action sur les mélanophores est apparemment très semblable à celle des toxines. Bien que nos observations dans ce sens ne soient pas encore terminées, nous nous permettrons de citer l'expérience suivante : plusieurs morceaux de peau furent pris chez une perche devenue blanche après la mort et rapidement broyés à la poudre de verre. Ensuite la pâte obtenue fut diluée avec une petite quantité de solution physiologique. Près de 1/2 c. c. du liquide filtré fut introduit sous la peau de la joue d'une perche.

Quelques minutes après l'injection, tous les mélanophores de la région injectée se contractèrent. La perche fut ensuite mise dans l'aquarium et laissée jusqu'au lendemain. Le jour suivant il se trouva que tous les mélanophores avaient repris leur aspect antérieur. Il n'est pas rare de voir que les poissons et les amphibies morts d'asphyxie ne changent pas leur coloration pendant un laps de temps relativement long.

Ainsi, par exemple, d'après les expériences de Lister (*l. c.*), on voit que des *Rana fusca*, asphyxiées dans l'atmosphère d'hydrogène ou d'acide carbonique, gardent leur coloration antérieure, et non seulement des exemplaires entiers, mais même des extrémités coupées.

Quand on les ramenait à l'air (après 2 à 9 heures de passage dans l'acide carbonique), ils blanchissaient quelque temps après. Ces expériences furent ensuite confirmées par Biedermann. A première vue, elles semblent contredire ce fait que les mélanophores se contractent après la mort de l'animal par suite de l'intoxication *post mortem*. Nous aussi nous avons observé que des perches asphyxiées dans de l'eau privée d'oxygène ne changent pas leur coloration pendant un temps relativement assez long. Cependant ces perches, 3 à 4 et même 6 heures après un séjour dans de l'eau privée d'oxygène, ramenées à l'air, ne manifestaient aucun blanchiment pendant un laps de temps assez prolongé. L'étude des mélanophores de ces perches a démontré que ces cellules étaient encore vivantes, et, bien que faiblement, répondaient à l'excitation électrique : ils faisaient, bien que très lentement, rentrer leur expansions. Biedermann, de son côté, a observé que des grenouilles, mortes d'asphyxie dans un bocal contenant de l'acide carbonique, blanchissaient après y avoir passé 24 heures. Il en a conclu très justement que l'acide carbonique provoque l'expansion des mélanophores en les amenant à un état d'affaiblissement. A notre avis c'est précisément par ce fait que peut s'expliquer le retard de l'effet de l'intoxication *post mortem* dans ces cas.

Ces phénomènes d'autointoxication peuvent avoir lieu non seulement après la mort de l'animal, mais aussi de son vivant. De nombreuses expériences sur l'influence de la circulation sur les mélanophores le prouvent, selon nous, d'une façon tout à fait convaincante.

Déjà Lister (*l. c.*) présentait de nombreuses preuves en faveur de la grande influence qu'a la circulation sur le changement de la coloration de la peau et démontrait que la cause du blanchiment *post mortem* n'est autre que l'arrêt de la circulation. Ensuite Hering et Hoyer (*l. c.*) tâchaient de démontrer que le système nerveux influe sur les mélanophores par l'intermédiaire du système vasculaire. Enfin, dans ces derniers temps, Biedermann (*l. c.*) a de nouveau analysé en détail cette question et a mis hors de doute la grande influence du système vasculaire sur les mélanophores. De toutes ces nombreuses observations on peut tirer la déduction suivante : là où, par suite de quelque cause que ce soit, survient un arrêt dans la circulation, on observe toujours aussi la contraction des mélanophores. Ainsi, par exemple, si chez une grenouille on serre complètement l'artère principale d'une des extrémités postérieures et qu'on y pratique une incision circulaire de la peau, alors, déjà 15-30 minutes après, les mélanophores manifestent leur maximum de contraction. Ou bien, si l'on coupe chez une *Rana fusca* foncée (dans la saison froide) toutes les parties molles de l'extrémité postérieure, à l'exception de l'artère et de la veine principales, les changements dans la coloration de la peau ne s'observent pas, aussi longtemps que la circulation du sang se produit régulièrement. Mais il suffit de pincer l'artère ou la veine pour que les mélanophores se mettent aussitôt à rentrer leurs expansions, et dans le premier cas, c'est-à-dire pendant l'anémie, l'effet est plus net et se produit plus vite. Si l'on rétablit ensuite la circulation, les mélanophores reviennent à leur état primitif. Biedermann (*l. c.*) a demontré, sur des grenouilles opérées de cette façon, que, même tous les nerfs coupés, le système nerveux continue à manifester son influence sur les mélanophores.

Ce fait a amené Biedermann à supposer que les mélanophores doivent s'innerver par voie tout à fait différente de celle que désigne toute une série d'expériences physiologiques et de recherches histologiques, à savoir : par les nerfs, qui passent avec les nerfs vasomoteurs. Cependant, personne jusqu'à présent n'a réussi a découvrir ces nerfs et à démontrer leur liaison avec les mélanophores.

Toutes les observations concernant l'influence directe du

système nerveux sur les mélanophores — observations parfois peu claires et contradictoires — obligent, au contraire, à penser que, en tenant compte des autres données, le système nerveux agit sur les cellules pigmentaires exclusivement par l'intermédiaire du système vasculaire. En provoquant, dans une région donnée de la peau, des changements dans la circulation, il amène par ce fait une intoxication locale, et, comme conséquence, la contraction des mélanophores. Il est indispensable de remarquer ici qu'avec le changement dans la circulation, pendant son arrêt, par exemple, ce ne sont pas seulement les mélanophores de la peau, mais aussi ceux qui recouvrent les parois des vaisseaux qui se contractent.

Tout l'ensemble des faits relatifs au changement dans la coloration des poissons, des amphibies et des reptiles démontre que c'est l'indépendance très développée des mélanophores qui est le principal, et que, dans la majorité des cas, c'est grâce à elle que surviennent les différentes variations dans la coloration de la peau. Comme cas particuliers, nous devons considérer les changements produits dans les mélanophores par le système nerveux.

Cela ne doit pas paraître étrange, si l'on tient compte de ce que, dans la coloration de la peau, ce sont les mélanophores qui jouent le rôle principal. Il suffit d'une insignifiante contraction de leurs expansions, d'un très léger raccourcissement de ces dernières, en somme, d'un changement minime dans la configuration de ces cellules pigmentaires, pour que la peau prenne déjà une autre coloration.

Dans la partie suivante de notre travail nous présenterons encore quelques faits confirmant le point de vue énoncé ci-dessus.

EXPLICATION DE LA PLANCHE XXI

Fig. 1. — Mélanophore d'une perche avec les fibrilles variqueux. Coloration vitale par le bleu de méthylène; fixage par le picrate d'ammoniaque : *r*, épaississement variqueux; *t*, fibrilles nerveuses insuffisamment colorées, s'arrêtant à l'épaississement variqueux.

Fig. 2. — Mélanophore de la vésicule vitelline d'un embryon du brochet, trois jours après l'éclosion : *o*, orifices formés par la soudure des expansions voisines.

Fig. 3. — Coupe transversale d'un tubercule de la peau du caméléon : fixage

par le sublimé et l'acide acétique; coloration par le carmin, suivie d'un lavage prolongé par une faible solution de l'acide picrique; *f*, fissures intracellulaires, par lesquelles les mélanophores envoient leurs expansions vers la périphérie; *ep*, épiderme; *mr*, terminaison des expansions des mélanophores; *M*, mélanophore.

Fig. 4. — Trois mélanophores (I, II et III) de la vésicule vitelline d'un embryon du brochet, deux jours après l'éclosion.

Fig. 5. — Coupe transversale d'un tubercule de la peau du caméléon; fixage par le sublimé et l'acide acétique après un traitement, pendant une demi-heure par la toxine tétanique; *ep*, épiderme; *f*, fissures par lesquelles les mélanophores envoient leurs expansions vers la périphérie; *M*, mélanophore.

Fig. 6. — Quatre mélanophores de la vésicule vitelline d'un embryon du brochet, deux jours après l'éclosion.

Fig. 7. — Coupe transversale de la *Hyla arborea* d'une coloration vert vif, ce qui correspond au maximum de contraction des mélanophores *M*; *ep*, épiderme; *xl*, xantholeucophores.

Fig. 8. — Mélanophores *M* et xantholeucophores *xl* de la perche, état d'expansion.

Fig. 9. — *Id.* après l'inoculation de la même région de peau par la toxine diphtérique : tous les mélanophores et xantholeucophores sont contractés.

Fig. 10. — Deux mélanophores I et II de la vésicule vitelline d'un embryon du brochet, trois jours après l'éclosion ; *N*, noyau.

Fig. 11. — Coupe transversale de la peau de la *Hyla arborea*; traitement par le *Vibrio Metchnikovi*; fixage par le sublimé et l'acide acétique; *ep*, épiderme; *xl*, xantholeucophores; *M*, mélanophores contractés (comparez *M* de la fig. 7).

Pouvoir préventif et pouvoir curatif du sérum humain dans l'infection due au Trypanosome du Nagana.

PAR LE Dr Oswald GOEBEL

(Travail du laboratoire d'hygiène et de bactériologie de l'Université de Gand.)

On doit à MM. Laveran et Mesnil[1] la découverte d'une action bien intéressante que possède le sérum humain chez les animaux inoculés avec des Trypanosomes de Bruce. Chez les souris, ils ont reconnu à ce sérum un pouvoir préventif certain, quand on injecte les parasites en mélange avec le sérum, et une action curative dont l'efficacité est incomplète, les Trypanosomes disparaissant rarement d'une manière définitive du sang.

En outre, ces auteurs ont observé que le sérum chauffé à 62° est rendu inactif et qu'il perd peu à peu ses propriétés en vieillissant. Ils admettent qu'il renferme une substance nocive pour les Trypanosomes, agissant à la façon de l'acide arsénieux.

Nous avons repris l'étude du sérum humain au point de vue de ses propriétés protectrices et curatives en cherchant surtout à interpréter son mode d'action.

A. Pouvoir préventif

L'inoculation à la souris d'un mélange composé de 2 c. c. de sérum humain et d'une goutte de sang nagané n'est jamais suivie d'infection ; nos expériences, à ce point de vue, ne peuvent que confirmer celles de MM. Laveran et Mesnil.

En opérant de la même façon chez le cobaye, nous avons, au contraire, provoqué à coup sûr l'infection de l'animal; pour protéger le cobaye nous avons dû réunir des conditions assez spéciales que nous allons exposer.

Tout d'abord l'infection n'a été évitée qu'au moyen de Trypanosomes ayant été en contact pendant plusieurs heures à 37° avec le sérum, comme on le constate dans l'expérience suivante :

1. A. Laveran, *C. R. Acad. Sciences*, 1er avril 1902; Laveran et Mesnil, Traitement et prévention du Nagana, *Ann. Inst. Pasteur*, 25 novembre 1902, — *Trypanosomes et Trypanosomiases*, page 167.

4 cobayes reçoivent sous la peau 0,3 c. c. de sang de cobaye nagané additionné de 8 c. c. de sérum fœtal; les inoculations sont pratiquées immédiatement après la préparation des mélanges et après un séjour de durée variable à la température ordinaire ou à 37°. Un 5e cobaye témoin reçoit à 0,3 c. c. de sang nagané mélangé avec 8 c. c. de sérum humain inactivé par chauffage, mélange qui a été mis préalablement pendant 2 heures à l'étuve.

	0,3 c. c. de sang nagané ajouté à	Moment de l'injection.	Durée de l'incubation [1].	
Cobaye 1.	8 c. c. sérum fœtal.	Immédiate.	6 jours.	Mort après 25 jours.
— 2.	8 c. c. —	Après 2 h. à 18°.	6 —	— — 47 —
— 3.	8 c. c. —	— 8 h. à 18°.	11 —	— — 60 —
— 4.	8 c. c. —	— 2 h. à 37°.		Survit.
— 5.	8 c. c. liq. physiol.	— 24 h. à 18°.	5 —	Mort après 24 jours.
— 6.	8 c. c. sér. humain à 64°	— 2 h. à 37°.	8 —	— — 23 —

1. Nous désignons ainsi, comme le font MM Laveran et Mesnil, le temps qui s'écoule entre l'inoculation et l'apparition des parasites dans le sang.

Dans cette expérience les inoculations étaient faites sous la peau. Comme le démontrent les essais suivants, la région où l'inoculation est pratiquée a aussi de l'importance, de même que la façon dont on injecte le sérum et les Trypanosomes, le pouvoir préventif ne se manifestant que lorsqu'on les introduit réunis dans l'organisme.

	1 c. c. de sang nagané + 4 c. c. sérum.	
Cobaye 7.	Trypanosomes sous la peau, sérum dans péritoine	Mort après 12 jours.
— 8.	Trypanosomes + sérum sous la peau.	Survit.
— 9.	— + sérum dans péritoine.	Mort après 14 jours.

(Nous avons employé dans cette expérience un mélange de sérum fœtal et de sérum d'adulte.)

Nous devons cependant reconnaître que, même en opérant dans les conditions indiquées (séjour du mélange 2 heures à 37°, injection sous la peau), il nous est parfois arrivé d'éprouver des échecs résultant, sans doute, de ce que nous avons dû nous servir de sérums dont l'activité n'était nullement équivalente.

Dans beaucoup de nos essais, nous avons eu recours à des sérums de fœtus, recueillis au moment de la délivrance. Or,

MM. Laveran et Mesnil ont constaté que le sérum fœtal est bien moins actif que le sérum d'adulte. Nous avons fait, dès le début, quelques expériences qui confirment leurs observations.

Comme nous ne connaissions pas à ce moment les conditions dans lesquelles on peut sûrement obtenir la survie des animaux, les injections des mélanges de Trypanosomes et de sérum de fœtus ou d'adulte ont été pratiquées sans séjour préalable à 37°.

	Inoculation sous-cutanée de 1 c. c. dépôt de Trypanosomes avec :	Incubation.	
Cobaye 10.	0.1 c. c. sérum fœtal.	4 jours.	Mort après 15 jours.
— 11.	1.0 c. c. —	7 —	— — 21 —
— 12.	2.0 c. c. —	9 —	— — 17 —
— 13.	0.1 c. c. sérum d'adulte.	7 —	— — 38 —
— 14.	1.0 c. c. —	9 —	— — 24 —
— 15.	2.0 c. c. —	15 —	— — 30 —

On voit qu'après les injections de sérum d'adulte, la durée de l'infection est plus longue.

On est naturellement tenté d'attribuer l'activité plus grande du sérum, qui a été en contact avec les parasites à 37° pendant plusieurs heures, à une action nocive directe du sérum sur les Trypanosomes. Mais cette action est encore à démontrer, comme nous l'établirons plus loin. Il nous semble qu'après avoir séjourné pendant 2 heures à 37° dans le sérum, un grand nombre de Trypanosomes sont morts *spontanément;* le sérum humain n'aurait donc à exercer son action que dans un organisme où peu de parasites ont été introduits. Cette hypothèse se trouve confirmée par l'expérience suivante :

On laisse pendant 3 heures à 37°, les mélanges :

A. 6 c. c. sérum fœtal frais + 1. 0 c. c. de sang à Trypanosomes;

B. 6 c. c. sérum fœtal inactivé par un chauffage à 64° pendant une demi-heure + 1, 0 c. c. de sang à Trypanosomes;

C. 6. 0 c. c. sérum fœtal inactivé de la même manière + 1. 0 c. c. de sang à Trypanosomes.

Ensuite, on ajoute au mélange A 6 c. c. de sérum fœtal inactivé ; à B 6 c. c. de sérum fœtal frais et à C 6 c. c. de liquide physiologique. Les 3 nouveaux mélanges sont inoculés immédiatement sous la peau de 3 cobayes. Le cobaye qui a reçu le mélange C s'infecte après 6 jours ; ceux qui ont reçu les mélanges A et B restent indemnes.

L'injection, pour être efficace, doit se faire sous la peau parce qu'en cet endroit la résorption du sérum se fait lentement et qu'ainsi les Trypanosomes restent longtemps en contact avec du sérum peu dilué. Il en est autrement quand le mélange est introduit dans le péritoine.

Chez la souris, on peut inoculer de grandes quantités de Trypanosomes et protéger l'animal avec de faibles doses de sérum (2 c. c.) parce que la masse du liquide préventif est très considérable par rapport à la masse du corps.

En d'autres termes, on pourrait dire que le sérum humain n'agit préventivement qu'à la condition de se trouver dans l'organisme pendant un temps assez long et à une concentration relativement forte.

Comme on le verra par la suite, le sérum humain est doué d'une activité bien plus grande chez l'animal infecté. En effet, des doses peu élevées font disparaître rapidement du sang des parasites extrêmement nombreux; sans doute, à l'action du sérum sur les parasites eux-mêmes s'ajoute alors celle de l'organisme luttant contre l'infection.

1. — *Le sérum humain exerce-t-il une action* in vitro *sur les Trypanosomes ?*

L'examen de préparations fraîches ne permet pas d'affirmer que le sérum nuit à la vitalité de ces parasites. S'il possède une action toxique sur eux, elle semble bien lente et peu marquée. En tout cas, elle ne se manifeste par aucune modification extérieure apparente des micro-organismes.

Nous avons, par des numérations, déterminé le nombre des Trypanosomes encore mobiles dans deux mélanges, l'un de Trypanosomes et de sérum humain frais, l'autre de Trypanosomes et de sérum humain rendu inactif par chauffage. Après 2 heures, le nombre des parasites mobiles était tombé de 65,265 par m. m. c. à 3,125 dans les deux mélanges. Le séjour en dehors de l'organisme vivant, surtout à une température de 37°, a donc pour conséquence à lui seul de diminuer considérablement le nombre des parasites vivants.

On ne peut guère songer à apprécier *in vitro* l'action des deux sérums, chauffé et non chauffé, pendant plus longtemps,

car, après 3 heures, la plupart des parasites y sont devenus immobiles et paraissent détruits. Et cependant, bien que les Trypanosomes se montrent également altérés dans les deux mélanges, on constate, en les inoculant au cobaye, que seul le mélange chauffé est encore infectieux.

Nous ne pouvons donc conclure à l'action trypanocide du sérum humain qu'en opérant *in vivo* ; or, dans l'organisme, la destruction des parasites pourrait résulter d'une action indirecte du sérum.

Dans l'hypothèse où le sérum humain aurait sur eux une action nocive, on doit se demander si les Trypanosomes ne fixent pas une partie plus ou moins notable d'une substance à laquelle serait dû son pouvoir préventif. Nous avons tenté de répondre à cette question par l'expérience suivante :

Les Trypanosomes de 10 c. c. de sang d'un cobaye fortement infecté sont centrifugés, lavés au liquide physiologique et mis à digérer avec du sérum humain. Après contact plus ou moins prolongé, on éloigne les parasites et l'on ajoute au sérum quelques gouttes de sang d'un cobaye nagané ; ce mélange sert aux inoculations. Des cobayes témoins reçoivent des Trypanosomes, additionnés de sérum humain n'ayant pas été en contact avec des parasites, à des doses correspondantes avec celles injectées aux animaux précédents.

Une difficulté sérieuse dans cette expérience résultait de l'incertitude où nous nous trouvions relativement à la dose justement préventive du sérum ; si ce sérum était ajouté en excès, les Trypanosomes pouvaient n'être pas assez abondants pour enlever complètement la substance protectrice ; s'il était injecté en trop faible quantité, au contraire, les témoins risquaient de n'être pas protégés.

Les résultats de ces essais n'ont pas tous été aussi nets que nous l'avions espéré. En se basant sur la durée plus ou moins longue du temps écoulé entre l'apparition des Trypanosomes dans le sang et le moment de l'inoculation, on peut néanmoins tirer parti de ces expériences. Il est d'observation constante que, chez les animaux inoculés avec des quantités égales du sang d'un même animal nagané, la durée de l'incubation diffère fort peu.

	Durée du contact.	3 gouttes de sang nagané plus :	Incubation.	
1 c. c. dépôt de trypanosomes + 3 c. c. sérum......	2h. à 37°.	sérum ayant été 2 h. à 37° avec Trypanosomes : cob. 20.	—	Survit.
		sérum non digéré : cob. 21.	—	—
1 c. c. dépôt de trypanosomes + 0.5 c. c. sérum.	2 h. à 37°.	sérum digéré : cob. 22.	—	—
		sérum non digéré : cob. 23.	12 jours.	Mort apr. 26 j.
0.8 c. c. dépôt de Trypanosomes + 1 c. c. sérum........	24 h. à 22°.	sérum digéré : cob. 24.	10 —	— 17 j.
		sérum non digéré : cob. 25.	15 —	— 20 j.
0.8 c. c. dépôt de Trypanosomes + 1.0 c. c. sérum........	24 h. à 22°.	sérum digéré : cob. 26.	10 —	— 16 j.
		sérum non digéré : cob. 27.	11 —	— 9 j.
0.9 c. c. dépôt de Trypanosomes + 4 c. c. sérum........	4 h. à 37°.	sérum digéré : cob. 28.	12 —	— 14 j.
		sérum non digéré : cob. 29.	10 —	— 6 j.

Comme on le voit sur ce tableau, il n'y a aucune différence notable à constater entre le pouvoir préventif du sérum ordinaire et celui du sérum qui a été en contact pendant 2 heures à 37° avec des Trypanosomes abondants. *L'essai avec* 0, 5 *c. c. de sérum non digéré et digéré semblerait même indiquer que le contact du sérum avec les parasites ne fait que le rendre plus actif.* Ce fait paradoxal se retrouve dans l'expérience suivante où nous avons opéré en même temps sur des souris et des cobayes avec les mélanges :

A. Trypanosomes et globules contenus dans 4 c. c. de sang nagané, centrifugés et lavés au liquide physiologique, + 9 c. c. sérum fœtal.

B. 4. c. c. de sang de cobaye normal + 9 c. c. sérum humain fœtal.

Les deux mélanges sont laissés à 37° pendant 2 heures, puis centrifugés et les liquides A et B séparés des dépôts sont ensuite additionnés chacun de 1, 0 c. c. de sang nagané. Les souris sont inoculées immédiatement avec une partie de ces mélanges ; le reste demeure 2 heures à 37° puis est inoculé à des cobayes.

	Inoculation.	Incubation.	
Souris A.	1 c. c. mélange A.	—	Survit.
Souris B.		—	—
Souris C.		—	—
Souris D.		—	—
Souris E.	1 c. c. mélange B.	—	—
Souris F.		—	—
Souris G.		—	—
Souris H.		—	—
Cobaye 30.	2 c. c. mélange A.	—	—
Cobaye 31.		—	—
Cobaye 32.	2 c. c. mélange B.	12 jours.	Mort après 20 jours.
Cobaye 33.		12 —	— 25 jours.

Le sérum humain, qui a été en contact avec des Trypanosomes, loin d'être privé de son action préventive, se montre également dans cette série d'expériences doué d'un pouvoir protecteur plus accusé, chez les cobayes, que le sérum ordinaire. En tout cas, il apparaît clairement que les Trypanosomes n'enlèvent pas au sérum une quantité appréciable de substance préventive.

En guise de contre-épreuve, les Trypanosomes, après séjour dans du sérum humain pendant 2 heures à 37°, ont été recueillis par centrifugation et mis en suspension dans du liquide physiologique; inoculés à des cobayes, ils ont toujours infecté les animaux en expérience.

Néanmoins nous pensons que certaines réserves s'imposent; peut-être les Trypanosomes fixent-ils très lentement la substance protectrice ou n'en enlèvent-ils qu'une quantité trop minime pour que le pouvoir préventif s'en ressente. Des difficultés techniques ne nous ont pas encore permis d'élucider cette question.

II. — *Dans quelle catégorie de matières albuminoïdes faut-il ranger la substance à laquelle est liée l'action protectrice du sérum humain ?*

Après avoir saturé 50 c. c. de sérum avec du sulfate de magnésie en substance et recueilli le précipité de globulines, nous avons lavé celui-ci avec une solution saturée de $Mg\,SO^4$, puis nous avons redissous par addition d'eau distillée. Le liquide à peu près clair, obtenu de cette façon, est soumis à la dialyse dans un sac de collodion; d'autre part les albumines recueillies

par filtration sont également dialysées. La dialyse n'a pas été poussée jusqu'à la disparition complète des sels, les Trypanosomes étant assez sensibles aux solutions hypotoniques [1].

Nous avons ensuite préparé les mélanges suivants :

2 c. c. albumine + 5 gouttes de sang nagané, Injection à souris *a* : *apparition des Trypanosomes après 4 jours.*

1 c. c. albumine + 5 gouttes de sang nagané. Injection à souris *b* : *apparition des Trypanosomes après 4 jours.*

2 c. c. globulines	+ 5 gouttes	de sang	nagané.	Injection	à souris	*c*.	Pas d'inf.
2 —	—	+ 5 —	—	—	—	—	*d*.	—
1 —	—	+ 5 —	—	—	—	—	*e*.	—
1 —	—	+ 5 —	—	—	—	—	*f*.	—

La substance préventive, d'après ces essais, paraît appartenir au groupe des globulines. En outre, elle est assez résistante puisque la précipitation par une solution saturée de sel magnésien lui laisse son activité.

Nous n'avons pu poursuivre plus loin l'étude des propriétés chimiques de cette substance. Aussi bien, son principal intérêt réside dans ses propriétés biologiques que nous avons essayé de déterminer.

III. — *La substance protectrice agit-elle comme l'une ou l'autre des substances connues que contiennent les sérums préventifs?*

Ce pourrait être une substance agissant directement sur la vitalité des Trypanosomes, comme celle que contient le sérum de rat blanc et qui tue les bacilles du charbon *in vitro*, ou celle du sérum d'anguille qui détruit les globules rouges de certains Vertébrés. On peut aussi *a priori* se la représenter comme une opsonine ou une cytotropine modifiant les Trypanosomes de manière à les rendre phagocytables.

Enfin, la substance en question a peut-être une constitution analogue à celle des sensibilisatrices auxquelles les sérums bactéricides, hémolytiques, etc., doivent leurs propriétés caractéristiques et qui sont actives seulement avec l'aide d'une alexine.

Mais, comme on l'a vu plus haut, le sérum qui a été en contact avec les parasites, conserve tout son pouvoir préventif et les parasites eux-mêmes, après ce contact, sont aussi infectieux qu'auparavant; il semble dès lors bien probable que le sérum

1. Cf. GOEBEL. *Ann. Soc. de médecine de Gand*, 1906, t. LXXXVI, p. 2.

humain ne contient pas un principe actif comparable à celui des sérums bactéricides ou des sérums bactériotropiques. Ces sérums, en effet, sont inactivés absolument quand on les met en présence des microorganismes pour lesquels ils sont spécifiques.

Les expériences suivantes fournissent aussi quelques indications qui montrent que l'action préventive du sérum humain dans le nagana ne dépend pas de la présence d'une sensibilisatrice spéciale.

1. *Action de la température.* — MM. Laveran et Mesnil ont constaté que le sérum humain conserve environ la moitié de son activité après avoir été chauffé pendant 1 heure à 56° ; or, on sait que si, à cette température, les sensibilisatrices sont probablement toutes inaltérées, la plupart des alexines, par contre, sont détruites. A 62°, ces mêmes auteurs ont constaté que le sérum a perdu la plus grande partie de son activité.

Nos expériences sur les cobayes ont donné les résultats suivants :

	1 c. c. dépôt de Trypanosomes ajouté à	Incubation.	
Cobaye 34.	3 c. c. sérum humain frais.	—	Pas d'infection.
Cobaye 35.	3 c. c. sérum humain chauffé à 57°	—	— —
Cobaye 36.	3 c. c. sérum humain chauffé à 64°	5 jours.	Mort après 6 jours.

Les Trypanosomes avaient été en contact pendant 2 heures à 37° avec le sérum avant l'injection et il s'agissait d'un sérum d'adulte très actif. L'action sur les souris du sérum chauffé a été mise à l'épreuve dans une autre expérience. Du sérum humain fœtal est tenu respectivement à 59°, 61°, 63° et 65° pendant 35 minutes.

A 1. c. c. de chacun de ces sérums nous ajoutons 0. 2 c. c. d'un dépôt de Trypanosomes, puis 1 c. c. de liquide physiologique.

Souris A.	Sérum tel quel.		Survit.
Souris B.	— à 59°	Apparition des Trypanosomes apr. 5 j.	Mort apr. 8 j.
Souris C.	— à 61°	— — — 4 j.	— — 7 j.
Souris D.	— à 63°	— — — 4 j.	— — 4 j.
Souris E.	— à 65°	— — — 2 j.	— — 5 j.

On remarque que la dose de sérum et la masse des Trypanosomes restant les mêmes, la durée de l'infection est en rap-

port avec la température à laquelle le sérum a été porté. Il ne s'agit donc pas d'une substance qui se détruit complètement à une température déterminée. Peut-être y a-t-il une série de substances albuminoïdes partielles dont chacune a une température de coagulation ou de mise en inactivité différente. Cette expérience montre en outre que dans certains cas le sérum peut être déjà rendu inactif à 59°.

Pour se rendre exactement compte de l'influence du degré de température, il faut évidemment envisager, dans ces expériences, bien des facteurs; voir s'il s'agit d'un sérum fœtal ou d'un sérum d'adulte, d'un sérum très actif ou peu actif, si les Trypanosomes sont très nombreux ou rares, très virulents ou peu virulents. Aussi, toutes ces circonstances, dont quelques unes même ne peuvent être vérifiées qu'après coup, nous interdisent d'opposer les résultats de nos expériences à ceux obtenus par MM. Laveran et Mesnil.

Puisqu'il est acquis en tout cas que le sérum chauffé à 64° est dépouillé complètement de son activité, n'est-il pas possible de lui rendre son pouvoir préventif en l'additionnant d'un sérum purement alexique?

Le sérum fœtal étant notablement moins actif que le sérum d'adulte, ce fait pourrait être dû à sa très faible teneur en sensibilisatrice. On sait, en effet, entre autre par les travaux de Sachs [1], que le sérum de bœuf adulte est actif vis-à-vis des globules de cobaye alors que le sérum de fœtus bovin ne possède aucun pouvoir hémolytique. On a démontré, d'autre part, que ce défaut d'activité est bien dû à une absence de sensibilisatrice puisque la quantité de complément y est sensiblement la même que dans le sérum d'adulte. Il était indiqué, dès lors, de rechercher si le sérum d'adulte chauffé peut être réactivé par l'addition d'une dose de sérum fœtal humain insuffisante par elle-même pour qu'on puisse lui attribuer une action préventive.

Nous avons préparé dans ce but les mélanges suivants :

A. 2 c. c. sérum d'adulte chauffé à 64° [+ 1, 0 c. c. sérum fœtal frais;
B. 2 c. c. sérum d'adulte non chauffé + 1. 0 c. c. liquide physiologique.
Le liquide A est inoculé au cobaye 94 : *Infection après 8 jours.*
Le liquide B est inoculé au cobaye 94 a : *Pas d'infection.*

A moins qu'elle ne soit détruite à 64°, le sérum humain ne

1. H. Sachs, *Munchener med. Wochenschrift*, 1904.

contient donc pas une sensibilisatrice pour les Trypanosomes qui se laisse compléter par l'alexine du sérum fœtal humain.

Nous avons essayé de réactiver le sérum d'adulte par du sérum d'autres espèces animales, notamment par du sérum de poule et par du sérum de porc. Ces essais, faits chez la souris, nous ont toujours donné des résultats négatifs.

2. *Absorption par des levures.* — Von Dungern[1] a constaté que des levures émulsionnées dans un sérum hémolytique lui enlèvent la propriété de dissoudre des globules rouges. Cette action est due à une fixation de l'alexine. Nous avons recherché si du sérum humain, digéré avec des levures, n'était pas dépouillé de ses propriétés protectrices.

4 c. c. de sérum humain fœtal récent sont tenus en contact pendant 2 heures à 37° avec 15 grosses anses de levures lavées à plusieurs reprises avec du liquide physiologique ; l'émulsion épaisse est ensuite centrifugée et le liquide de centrifugation additionné de 0,5 c. c. de sang à Trypanosomes. Un témoin est constitué par un mélange de 4 c. c. de sérum humain + 0,5 c. c. de sang à Trypanosomes.

Les deux tubes sont laissés 2 heures à 37°, puis leur contenu inoculé sous la peau à deux cobayes :

Cob. 95 (sérum humain digéré avec levures) ; *pas d'infection*.

Cob. 96 (sérum humain non digéré) : *pas d'infection*.

Cette expérience montre aussi que le mode d'action du sérum humain n'est pas comparable au mécanisme que les sérums bactéricides ou hémolytiques mettent en jeu, puisqu'il n'y a pas intervention d'une alexine.

Il est à remarquer en outre que le tube qui renfermait le sérum et les levures et qui avait été additionné de Trypanosomes mélangés avec des hématies de cobaye, ne présentait aucune trace d'hémolyse après 2 heures de séjour à l'étuve, tandis que l'hémolyse était complète dans le tube renfermant le mélange de Trypanosomes, de globules de cobaye et de sérum humain. Puisque dans les deux cas les liquides se sont montrés protecteurs, on est amené à croire que la substance active du sérum est bien différente de celle qui provoque l'hémolyse, contrairement à la manière de voir de Nissle[2]. Cet auteur soutient, en effet, que les substances qui altèrent les Trypanosomes sont identiques à celles qui modifient les globules rouges et il admet pour le sérum

1. Von Dungern, *Münchener med. Wochenschr.*, 1900.
2. Nissle, *Archiv f. Hygiene*, 1905 t. LIII.

humain une action nuisible sur les Trypanosomes, adéquate à son action hémolytique.

3. *Action des alcalis.* — Dans leurs expériences sur la multiplicité des alexines, Ehrlich et Sachs ont montré que certaines d'entre elles sont détruites par un contact plus ou moins prolongé avec un alcali. Nous avons essayé de mettre cette constatation à profit en opérant comme suit :

4 c. c. de sérum fœtal sont additionnés de 1. c. c. de solution normale d'hydrate de soude ; après 10 minutes on neutralise par la solution normale d'acide chlorhydrique et on ajoute 0.5 c. c. de sang à Trypanosomes. Le mélange après 2 heures de séjour à 37° est injecté sous la peau d'un cobaye ; un cobaye témoin reçoit la même dose de Trypanosomes en mélange avec du sérum auquel on a ajouté 2 c. c. de solution neutre (1 c. c. de solution normale de soude + 1 c. c. de solution normale d'acide chlorhydrique). Un 3e mélange est constitué par 4 c. c. de sérum humain frais + 0,5 c. c. de sang à Trypanosomes.

Cob. 97 (sérum soumis à l'action de la soude, puis neutralisé) ; *infection après 9 jours.*

Cob. 98. (sérum additionné de liquide neutralisé) ; *pas d'infection.*

Cob. 99 ; (sérum humain frais) ; *pas d'infection.*

Le contact avec la soude fait donc perdre au sérum ses propriétés protectrices. Mais cette expérience ne permet pas d'affirmer que ces propriétés sont sous la dépendance d'une alexine. Il est probable que la substance *sui generis*, à laquelle il doit son activité, est détruite par le traitement à la soude.

4. ***Formation d'un anticorps.*** — La substance active en question est-elle capable de donner lieu à la formation d'un anticorps actif *in vitro* comme *in vivo ?*

Nos premiers essais ont été faits en mélangeant du sérum d'un lapin, traité par du sérum humain, à du sérum humain normal, mélange additionné de sang riche en Trypanosomes. Dans une première expérience, les mélanges ont été injectés dans le péritoine quelques minutes après addition des parasites.

Expérience II.

Cob. 100 : 1 c.c. de sang à Trypanosomes + 3 c. c. sérum humain fœtal (*témoin*) : Trypanosome *après* 16 *jours, mort après* 60 *jours.*

Cob. 101 : 1 c. c. sang à Trypanosomes + 3 c. c. sérum humain + 1 c. c. sérum antihumain : *Trypanosomes après 4 jours, mort après 6 jours.*

Cob. 102 : 1 c. c. sang à Trypanosomes + 3 c. c. sérum humain + 2 c. c. sérum antihumain : *Trypanosomes après* 2 *jours, mort après* 5 *jours.*

Cob. 103 : 1 c. c. sang à Trypanosomes + 3 c. c. sérum humain + 3 c .c. sérum antihumain : *Trypanosomes après 3 jours, mort après 6 jours.*

Dans cette expérience, l'action préventive du sérum a été insuffisante, l'injection avait été faite dans le péritoine, etc. On constate néanmoins que la période d'incubation et la durée totale de la maladie sont beaucoup plus longues chez le témoin que chez les animaux ayant reçu, en même temps que du sérum humain, une certaine dose de sérum antihumain.

Pour d'autres expériences, l'injection a été faite sous la peau à des cobayes.

Expérience II.

Cob. 104 : 1 c. c. sang à Trypanosomes + 4 c. c. sérum humain : *Pas d'infection.*

Cob. 105 : 1 c. c. sang à Trypanosomes + 4 c. c. sérum humain + 1 c. c. sérum antihumain : *Trypanosome après 9 jours, mort après 25 jours.*

Expérience III.

Cob. 106 : 0,5 c. c. sang à Trypanosomes + 4 c. c. sérum humain fœtal. *Pas d'infection.*

Cob. 107 : 0,5 c. c. sang à Trypanosomes + 4 c. c. sérum humain fœtal + 2 c. c. sérum antihumain : *Trypanosomes après 12 jours, mort après 30 jours.*

Dans l'expérience suivante, nous avons mis en parallèle l'injection immédiate des mélanges et leur injection après 2 heures de séjour à 37° :

Cob. 110 : 0,3 c. c. sang à Trypanosomes + 8 c. c. sérum humain (2 heures à 37°) : *Pas d'infection.*

Cob. 108 : 0,3 c. c. sang à Trypanosomes + 8 c. c. sérum humain (injection immédiate) : *Trypanosomes après 6 jours, mort après 25 jours.*

Cob. 109 : 0,3 c. c. sang à Trypanosomes + 8 c. c. sérum humain + 3 c. c. sérum antihumain (injection immédiate) : *Trypanosomes après 8 jours, mort après 30 jours.*

Cob. 111 : 0,3 c. c. sang à Trypanosomes + 8 c. c. sérum humain + 3 c. c. sérum antihumain (2 heures à 37°) : *Trypanosomes après 8 jours, mort après 23 jours.*

Des essais du même genre, faits chez la souris, ont donné des résultats qui concordent avec les précédents.

Nous sommes donc en droit d'affirmer que le sérum de lapin, immunisé contre le sérum humain, enlève à celui-ci son pouvoir protecteur lorsque les deux sérums ont été mélangés in vitro.

Restait à rechercher si les animaux, soumis à des injections répétées de sérum humain, s'infectent lorsqu'on leur inocule un mélange de sérum humain et de Trypanosomes, qui est inoffensif pour un animal non préparé.

2 cobayes reçoivent en 3 fois 10 c. c. de sérum humain sous la peau; quelques jours après la dernière injection on leur inocule, en même temps qu'à 2 témoins, un mélange constitué par 2.7 c. c. de sérum humain et 0,5 c. c. de dépôt de Trypanosomes. (Le sérum de ces cobayes ne donnait avec le sérum humain aucun précipité appréciable; le sérum de cobaye est, comme on le sait d'ailleurs, peu riche en précipitines).

	2.7 c.c. sérum humain + 5 c.c. sang à Trypanosomes.	Incubation.	
Cobaye 112.	Immunisé contre sang humain.	11 jours.	Mort après 20 jours.
— 113.	— — — —	8 —	— — 17 —
— 114.	Non immunisé.	—	Survit.
— 115.	— —	11 —	Mort après 20 jours.

La même expérience a été faite chez des souris qui avaient reçu au préalable 4 c. c. de sérum humain en 2 fois.

	2 c. c. sérum humain + 0.5 c. c. sang à Trypanosomes.	Incubation.	
Souris 1.	Immunisées contre sérum humain.	8 jours.	Morte après 10 jours.
— 2.		—	Survit.
— 3.		7 jours.	Morte après 9 jours.
— 4.		—	Survit.
— 5.	Non immunisées.	—	Survit.
— 6.		—	—
— 7.		8 jours.	Morte après 10 jours.
— 8.		—	Survit.

Pour ces expériences, nous avons employé une dose protectrice assez faible de sorte que plusieurs animaux non immunisés ont succombé. Néanmoins, on constate une mortalité un peu plus considérable chez les animaux immunisés contre le sérum humain. Il semble bien qu'une certaine neutralisation du principe actif du sérum se produise dans l'organisme vivant chez les animaux immunisés, comme elle se produit *in vitro*.

Le sérum antihumain rend-il le sérum humain inactif par suite d'une réaction spécifique qu'on pourrait comparer à celle d'une toxine réagissant avec son antitoxine? Suffit-il, pour lui

enlever son pouvoir protecteur, d'ajouter la dose préventive de sérum humain à un mélange de deux sérums précipitants quelconques, ou même, tout simplement, à une certaine quantité d'un sérum hétérologue?

A première vue, il semble qu'on doit avoir affaire à un phénomène spécifique ressemblant à la neutralisation du sérum d'anguille par son antisérum par exemple. Dans les deux cas ce sont des éléments cellulaires assez comparables, Trypanosomes ou globules rouges, qui sont protégés contre l'action propre d'un sérum.

Nous avons essayé d'élucider cette question de la façon suivante :

A une dose protectrice de sérum humain, on ajoute du sérum de cheval et du sérum de lapin immunisé contre le sérum de cheval et l'on injecte le mélange avec le précipité qui s'y est produit. Un témoin reçoit la même dose de sérum humain additionnée de sérum antihumain, un autre témoin cette dose de sérum humain additionnée de sérum de lapin normal. A tous ces liquides on ajoute 0.25 c. c. de sang nagané.

Expérience I.

Cobaye	Mélanges injectés : 0.25 c. c. de sang nagané ajouté à :	Incubation.	Mort après	Contrôles
116.	3 c. c. sérum humain + 3 c. c. sérum antihumain	5 jours.	21 jours.	—
117.	3 c. c. sérum humain + 3 c. c. sérum antihumain	5 —	22 —	—
118.	3 c. c. sérum humain + 3 c. c. sérum lapin normal	7 —	28 —	—
119.	3 c. c. sérum humain + 3 c. c. sérum lapin normal	8 —	26 —	—
120.	1 c. c. sérum cheval + 3 c. c. sérum anticheval	5 —	24 —	—
121.	1 c. c. sérum cheval + 3 c. c. sérum anticheval	5 —	12 —	—
122.	3 c. c. sérum humain + 2 c. c. sérum anticheval + 3 c. c. sérum cheval	7 —	36 —	
123.	3 c. c. sérum humain + 2 c. c. sérum anticheval + 3 c. c. sérum cheval	7 —	18 —	

Malheureusement la dose préventive de sérum paraît avoir été insuffisante dans cette expérience; nous ne pouvons donc utiliser ces résultats qu'en comparant la durée de la période d'incubation chez les animaux contrôles et chez les animaux soumis à l'action des mélanges précipitants de sérum cheval et anticheval.

On constate que l'apparition des parasites dans le sang

n'est pas plus précoce chez ces animaux (122 et 123). Le pouvoir protecteur du sérum humain ne paraît donc pas diminué par le fait que ce sérum a été mélangé à un sérum d'une espèce différente et qui a donné un abondant précipité avec son antisérum.

Nous avons repris cette expérience et préparé 3 mélanges dans les conditions suivantes :

Mélange A. 8 c. c. sérum humain fœtal + 4 c. c. sérum lapin normal ;
— B. 8 c. c. — — + 4 c. c. — antihumain ;
— C. 8 c. c. — — + 4 c. c. — cheval + 4 c. c. sérum anticheval.

A chacun de ces mélanges a été ajouté 0,5 c. c. de sang à Trypanosomes.

Expérience II.

		Incubation
Cobaye 124.	4 c. c. mélange A.	9 jours.
— 125.	—	9 —
— 126.	4 c. c. mélange B.	6 jours.
— 127.	—	6 —
— 128.	4 c. c. mélange C.	8 jours.
— 129.	—	8 —

La dose protectrice dans l'expérience II étant encore insuffisante, nous avons fait de nouveaux essais avec un sérum anticheval particulièrement actif.

Mélange A : 8 c. c. sérum humain + 1.0 c. c. sérum lapin normal + 2 c. c. liquide physiologique (contrôle).

Mélange B : 8 c. c. sérum humain + 2 c. c. sérum antihumain + 1 c. c. liquide physiologique (contrôle).

Mélange C : 8 c. c. sérum humain + 2 c. c. sérum cheval + 1 c. c. sérum anticheval.

Expérience III.

	0,5 c. c. sang nagané plus :	Incubation	
Cobaye 130.	5 c.c. mélange A.	—	Survie.
— 131.	5 c.c. —	—	—
— 132.	5 c.c. mélange B.	10 jours.	Mort
— 133.	5 c.c. —	10 —	—
— 134.	5 c.c. mélange C.	8 —	—
— 135.	5 c.c. —	10 —	—
— 136.	5 c.c. —	6 —	—
— 137.	5 c.c. —	8 —	—

Expérience IV.

	0,5 c. c. de sang nagané plus :	Incubation	Mort après
Souris 56.	0,5 c.c. sérum humain+0,5 sérum antihumain.	5 jours.	9 jours.
— 57.	0,5 c.c. sérum humain+0,5 sérum lapin normal.	7 —	10 —
— 58.	0,5 c.c. sérum humain+0,5 sérum anticheval+ 0,5 sérum cheval........................	7 —	10 —
— 59.	0,5 c.c. sérum anticheval+0,5 sérum cheval...	3 —	5 —

La dernière expérience, faite avec les mélanges ci-dessus, a été surtout démonstrative :

A, Sérum cheval 1,0 c. c. + sérum anticheval 2,0 c. c. + sérum humain 4 c. c.

B, Sérum cheval 1,0 c. c. + sérum lapin normal 2,0 + sérum humain 4 c. c.

C — Liquide physiologique 1,0 c. c. + sérum anti-humain 2,0 c. c. + sérum humain 4 c. c.

A tous ces mélanges nous ajoutons 0, 5 c. c. de sang à Trypanosomes.

Expérience V.

		Incubation.	
Souris 60.	1 c. c. de mélange A (S. cheval + anticheval).	7 jours.	Mort après 9 jours.
— 61.	1 c. c. — A —	8 —	— — 11 —
— 62.	1 c. c. — A —	7 —	— — 10 —
— 63.	1 c. c. — B (contrôle).	—	Survit.
— 64.	1 c. c. — B —	—	—
— 65.	1 c. c. — B —	—	—
— 66.	1 c. c. — C (S. humain et antihumain.)	6 jours.	Mort après 10 jours.
— 67.	1 c. c. — C —	6 —	— — 10 —

Nous ne croyons pas pouvoir tirer des conclusions fermes de ces quelques expériences. Il en ressort toutefois que le sérum humain peut perdre son pouvoir préventif dans un mélange de sérums précipitants quelconques (cheval et anticheval) et qu'il n'est pas nécessaire, pour neutraliser ce pouvoir, de recourir à un antisérum spécifique. Il semble même que l'addition de sérum de lapin normal au sérum humain diminue son action protectrice.

5. — *Recherche des opsonines et des cytotropines.* — Les travaux récents sur ces substances nous ont engagé à rechercher directement leur existence dans le sérum humain, en suivant à peu près la technique indiquée par Neufeld et Hüne[1].

Les leucocytes d'un exsudat péritonéal, obtenu chez le cobaye par inoculation de bouillon additionné d'aleuronate, sont lavés et émulsionnés dans du liquide physiologique ; de cette émultion épaisse, on met 3 gouttes dans de petits tubes avec 3 gouttes de Trypanosomes centrifugés du sang et 2 gouttes de sérum humain frais ou chauffé au préalable à 64°. Après 1 à 2 heures de séjour à l'étuve, le liquide en excès est enlevé et le dépôt réparti en frottis sur lames que l'on colore ensuite par le Giemsa.

D'autre part, voulant chercher si une action cytotropique ne se produirait pas par une combinaison de sérum humain et de sérum d'une autre espèce animale, nous avons mis la même quantité de leucocytes dans des tubes renfermant 2 gouttes de sérum humain frais, additionnées respectivement de 2 gouttes de sérum de lapin, de sérum de poule, de sérum de souris, de sérum de cobaye sain, de sérum de cobaye nagané; chaque tube recevait en outre 3 gouttes de suspension de Trypanosomes. — Enfin, dans une autre série de tubes, nous plaçons 3 gouttes d'émulsion de Trypanosomes + 3 gouttes d'émulsion de leucocytes et 2 gouttes de sérum de lapin, de poule, de souris, de cobaye sain ou de cobaye nagané.

Sur toutes les préparations, faites au moyen des mélanges qui sont restés 1 heure à 37°, on retrouve un certain nombre de parasites ayant conservé leurs formes et leurs affinités pour les matières colorantes; mais la très grande majorité des Trypanosomes sont détruits; il n'en persiste plus que leurs restes plasmolysés, flagelle et noyau, celui-ci se présentant sous l'aspect d'une petite masse arrondie colorée en rouge. Le noyau a une forme assez caractéristique qui permet de le reconnaître dans le protoplasme des polynucléaires. Les restes des Trypanosomes sont seuls phagocytés et cette phagocytose s'observe avec la même intensité dans tous les mélanges; on peut la considérer comme un phénomène d'ordre banal. Jamais nous n'avons observé la phagocytose de Trypanosomes ayant leurs formes normales.

Après 3 heures de séjour à 37°, l'aspect des préparations est encore sensiblement le même, sauf que le nombre des parasites intacts est encore

1. Neufeld et Hüne. *Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1907, t. XXV, f. 2.

moindre; il semble aussi que les restes de noyaux sont beaucoup moins abondants.

Le sérum humain, seul ou additionné de sérum d'autres espèces animales, paraît donc dépourvu vis-à-vis des Trypanosomes de tout pouvoir opsonique ou cytotropique, comparable à celui qui a été reconnu à divers sérums pour des Bactéries variées et même pour des éléments cellulaires de dimensions relativement grandes tels que des hématies.

Il resterait à examiner si le sérum humain ne manifeste aucun pouvoir cytotropique dans les conditions expérimentales où l'on s'est placé, parce que les *microphages* du sang sont impuissants contre les Trypanosomes vivants. Le rôle des phagocytes ne pourrait-il pas être joué exclusivement par les *macrophages* de la rate, de la moelle osseuse, etc.? Des recherches ultérieures sur le phagocytisme au sein des organes parenchymateux élucideront cette question.

Il y a lieu, en tout cas, de rapprocher cette impuissance des leucocytes vis-à-vis des Trypanosomes du Nagana de leur pouvoir phagocytaire très considérable pour le *Trypanosoma lewisi*, constaté par MM. Laveran et Mesnil chez les rats immunisés activement ou passivement contre ce dernier parasite.

B. Pouvoir curatif.

Comme nous l'avons rappelé plus haut, MM. Laveran et Mesnil ont reconnu que le pouvoir curatif du sérum humain n'est pas absolu, en ce sens que presque toujours les Trypanosomes reparaissent dans le sang après un temps plus ou moins long; pourtant, dans deux cas, ils ont observé une guérison radicale des souris.

Nous avons étudié à notre tour cette action curative chez les souris et les cobayes. Chez la souris, conformément aux observations des auteurs précités, l'injection de 2 c. c. de sérum humain fait disparaître les parasites du sang.

Leur réapparition est d'autant plus tardive que le moment de l'injection est moins éloigné du début de l'infection, comme le démontre l'expérience suivante :

	Inoculation des Trypanosomes	Injection de sérum après :	Réapparition des Trypanosomes
Souris a.	Le 14 juillet.	1 jour, 15 juillet.	9 jours après l'injection.
Souris b.	— —	2 jours, 16 juillet.	8 jours —
Souris c.	— —	3 jours, 17 juillet.	6 jours —
Souris d.	— —	4 jours, 18 juillet.	5 jours —

Par une injection de sérum humain, on peut obtenir la disparition complète des parasites, même chez des souris fortement infectées ; mais, cette action exigeant un certain temps pour se manifester, les animaux arrivés à la dernière période de la maladie meurent généralement sans que le nombre des Trypanosomes ait diminué d'une façon appréciable.

Les souris, dont le sang est débarrassé de ses innombrables parasites grâce au sérum, ne présentent aucun symptôme spécial ; il ne semble pas exister chez elles de lésions organiques plus ou moins graves. Cependant, si l'on tue l'animal à ce moment, on constate que la rate est fortement hypertrophiée.

Il était intéressant de rechercher si les parasites ne se retrouvent pas dans cet organe et dans d'autres, comme on l'observe chez le cobaye après leur disparition spontanée au cours de l'infection. On sait que les Trypanosomes, presque complètement absents du sang à une certaine période, existent alors en grand nombre dans les testicules, les ganglions, etc.[1].

Nous avons examiné à ce point de vue quelques souris, chez lesquelles les parasites avaient disparu après une injection de sérum. Les Trypanosomes ayant reparu après quelques jours, on pratique une nouvelle injection et les parasites deviennent très rares dans le sang (1-2 par préparation fraîche).

On extirpe alors les ganglions inguinaux dont on fait des frottis ; ceux-ci, colorés par le Giemsa, ne montrent pas de parasites.

Chez le cobaye, les choses se passent autrement. Comme on le verra plus loin, on peut aussi chez cet animal faire disparaître les parasites du sang, mais si, 24-48 heures après l'injection, on enlève les ganglions inguinaux, on y trouve des Trypanosomes assez nombreux,

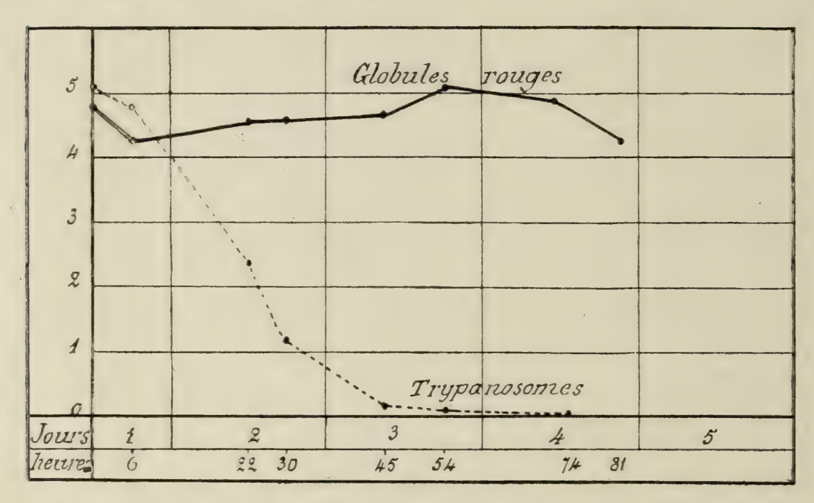
La persistance des parasites dans les ganglions du cobaye

1. Cf. Van Durme. *Archives de parasitologie*, t. X, n° 2, 1906, et Goebel et Demoor, *Annales de la Société de médecine de Gand*, 1906.

traités par le sérum humain est à rapprocher de leur persistance dans ces organes lors des rémissions spontanées. Pour ce qui concerne l'action curative du sérum humain chez le cobaye, il y a lieu d'être réservé dans l'interprétation des faits afin de n'être point victime de simples coïncidences, une période de rémission du nombre des parasites étant de règle au cours de l'infection naganée chez le cobaye. Mais, après l'injection de sérum, la disparition des parasites est plus rapide et surtout plus complète; pendant plusieurs jours, on ne trouve plus un seul Trypanosome dans le sang, tandis que dans le cas de rémission spontanée, on en trouve encore toujours quelques unités.

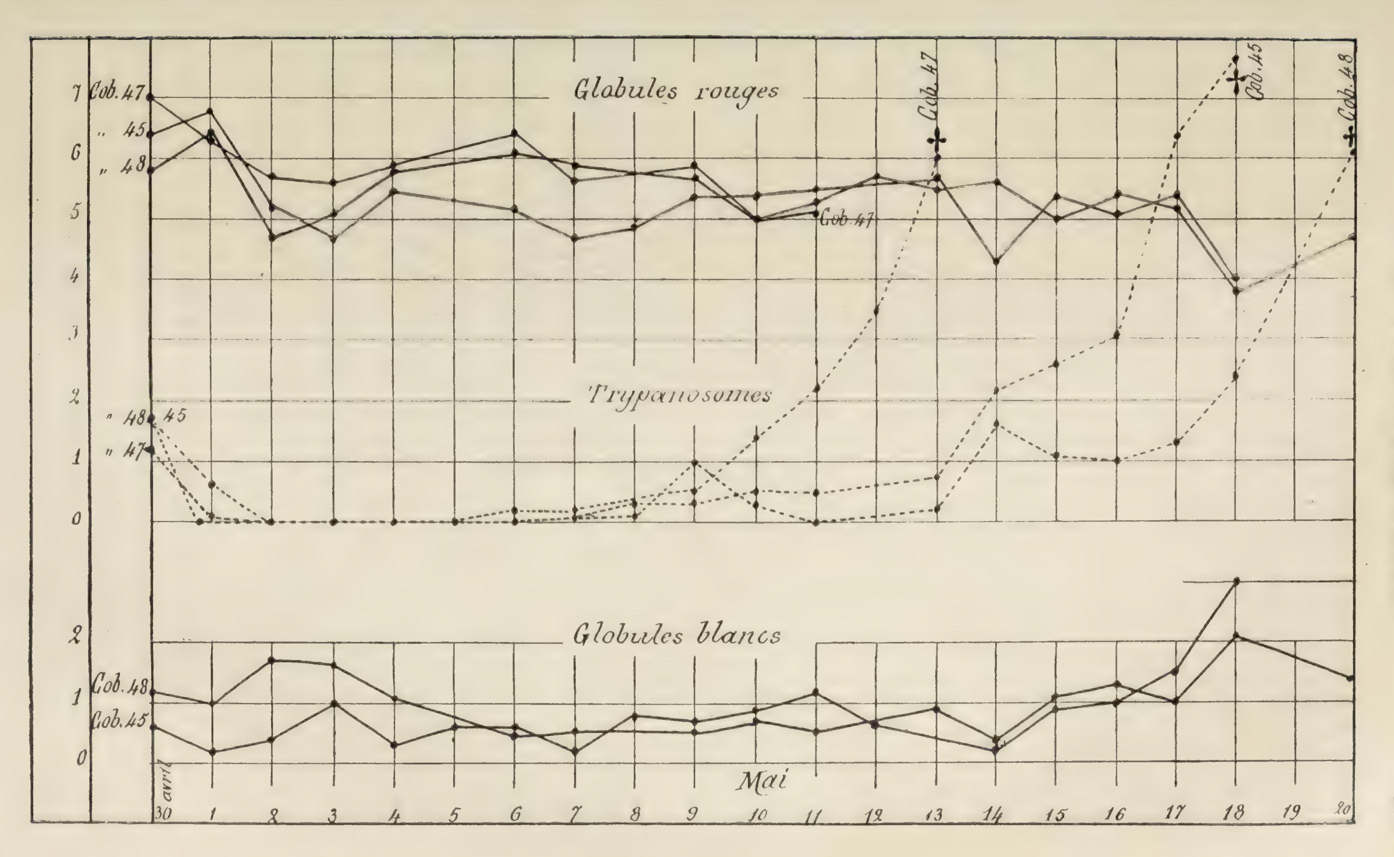
Nous avons déterminé le nombre des Trypanosomes par mmc. au moyen du compte-globules de Thoma-Zeiss.

En général la chute du nombre des Trypanosomes est assez régulière comme le montre le tracé ci-dessous chez un cobaye ayant reçu 5 c. c. de sérum humain.



N. B. Dans ce tracé et dans les suivants, chacune des grandes divisions correspond à 1,000,000 de globules rouges. à 100,000 Trypasonomes et à 10,000 globules blancs.

Il arrive parfois, pendant les premières heures qui suivent l'injection, que le nombre des Trypanosomes, loin de diminuer, continue à augmenter. Un exemple de ce fait est fourni par le cobaye H25 chez lequel nous avons pratiqué à diverses reprises la numération des Trypanosomes, des globules rouges et des


Globules rouges
Cob. 47
" 45
" 48
Cob. 47
Cob. 47
Cob. 45
Cob. 48
Trypanosomes
" 48 45
" 47
Globules blancs
Cob. 48
Cob. 45
Mai
avril
30
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
7
6
5
4
3
2
1
0
2
1
0

globules blancs. La première numération est faite 1/2 heure avant l'injection de 5 c. c. de sérum humain.

	Parasites.	Globules rouges	Globules blancs.
Avant injection.	384.375 par mmc.	7.200.000 par mmc.	7.500 par mmc.
Après 7 heures.	418.750 —	7.100.000 —	3.437 —
Après 24 —	156.250 —	6.700.000 —	1.250 —
Après 32 —	7.500 —	6.564.000 —	3.125 —
Après 46 —	9.375 —	6.500.000 —	5.625 —
Après 56 —	0 —	6.600.000 —	4.062 —

En établissant plusieurs tracés, on constate qu'ils présentent en général la même allure; toujours on voit une chute du nombre des parasites 24 heures après l'injection du sérum humain. Quand le nombre des parasites dans le sang n'est pas trop considérable, on peut même observer leur disparition complète 24 heures après. La rapidité de leur disparition est donc en rapport avec leur nombre initial.

De même que chez la souris, il arrive que le sérum soit sans action lorsqu'on intervient pendant les dernières périodes de la maladie.

Lorsqu'il y a une tendance à la rémission spontanée dans le nombre des parasites, l'action du sérum est accélérée et il agit à doses moindres. Au début de l'affection, les forces réactionnelles de l'organisme sont plus actives et se combinent sans doute avec l'action du sérum. Vers la fin de la maladie, par contre, l'organisme est probablement déjà fort affaibli; la phagocytose des parasites se fait probablement mal; en outre, le sang est dépouillé d'un élément important, l'alexine[1] qui joue peut-être un rôle important dans la défense contre l'infection naganée. La dose de sérum influe évidemment sur la rapidité avec laquelle s'accomplit la disparition des Trypanosomes, mais cette influence n'est ni constante, ni régulière; par contre, presque toujours, la durée de la période de disparition et la durée totale de l'infection sont sous la dépendance de la quantité de sérum.

Les courbes, page 903, montrent bien les variations dans le nombre des parasites et des globules rouges. Elles ont été dres-

1 Cf. Gœbel, *Annales de la Soc. de Méd. de Gand*, 1906. — Nous avons montré dans ce travail que chez le cobaye immunisé contre les globules de lapin et infecté en même temps de nagana, il y a disparition de la plus grande partie de l'alexine et diminution de la quantité de sensibilisatrice hémolytique.

sées pour 3 cobayes (45, 48, 47) inoculés simultanément. 7 jours après, leur sang renfermait sensiblement le même nombre de parasites ; on leur inocule alors dans le péritoine des doses décroissantes de sérum, soit : 6 c. c. au cobaye 48, 3 c. c. au cobaye 45 et 1 c. c. au cobaye 47.

L'injection de sérum ne paraît pas avoir d'influence bien notable sur le nombre des globules rouges ; la destruction des Trypanosomes est bien indépendante de toute action hémolytique. Le nombre des globules blancs aussi ne subit aucune variation notable. On ne constate pas de leucocytose marquée ; tout au plus y a-t-il, 1 ou 2 jours après, une légère hausse dans le nombre des globules blancs. Enfin il semble bien que la phagocytose des parasites fait défaut dans le sang circulant.

La numération des parasites nous a encore rendu service pour l'étude de l'action exercée par divers facteurs sur le pouvoir curatif du sérum humain.

1. *Action de la température.* A 3 cobayes, chez lesquels le nombre des parasites était considérable, on injecte du sérum humain dans le péritoine :

Le cobaye 70 reçoit 7 c. c. de sérum fœtal frais, le cobaye 77, 7 c. c. de sérum fœtal chauffé 1/2 heure à 58°, et le cobaye 75, 7 c. c. de sérum fœtal chauffé 1/2 heure à 64°.

Chez le cobaye 75, le sang était beaucoup moins riche en parasites dès le début; l'essai n'en est que plus probant si ces parasites peu nombreux ne disparaissent point par l'injection de sérum chauffé à 64°. Des numérations répétées ont donné les résultats suivants :

	Nombre de Trypanosomes par mm. c.			Examen du sang en préparation fraîche.
	Cob. 70. (Sérum frais.)	Cob. 75. (Sérum à 58°.)	Cob. 75. (Sérum à 64°.)	
Avant l'injection.	281.250	356.250	12.500	
Après 17 heures.	0	171.875	6.250	
— 45 —	0	0	12.500	Pas de Trypanosomes chez les cobayes 70 et 77.
— 3 jours.	0	0	0	Pas de Trypanosomes chez 70 et 77. Plusieurs chez 75.
— 4 —	0	0	0	Pas de Trypanosomes chez 70 et 77. Plusieurs chez 75.
— 5 —	0	0	0	1 Trypanosome chez 70 et 77. Plusieurs chez 75.
— 6 —	0	0	18.750	Quelques Trypanosomes ch. 70 et 77.
— 7 —	0	0	12.500	— — —
— 8 —	12.500	6.250	43.750	
— 9 —	32.250	0	15.625	
— 10 —	131.250	31.250	25.000	
— 11 —	276.375	81.250	53.125	

On voit par ce tableau que le pouvoir curatif du sérum chauffé à 64° a beaucoup diminué; on a pu toujours retrouver des parasites chez le cobaye 75 dont le sang, dès le début, contenait peu de Trypanosomes, sinon par la numération du sang dilué à 1 : 200, du moins en examinant une goutte de sang non dilué.

Dans l'expérience suivante, le résultat est plus net encore, les parasites étant plus nombreux avant l'injection de sérum, les cobayes ayant été injectés depuis 12 jours. A ce moment ils reçoivent 10 c. c. de sérum dans le péritoine.

Au cobaye 73, on injecte du sérum non chauffé, au cobaye 74, du sérum chauffé à 64°.

	COBAYE 73.	COBAYE 74.
Avant l'injection.	540.625	40.625
Après 22 heures.	312.875	84.375
— 2 jours.	0	25.000
— 3 —	0	121.875
— 4 —	0	393.750
— 5 —	0	468.750

Il semble cependant, d'après nos numérations, que le sérum humain, chauffé à 64°, renferme encore une certaine quantité de substance curative; on observe, en effet, une diminution passagère du nombre des parasites deux jours après l'injection.

2. *Action des levures.* En opérant de la même manière que pour l'étude du pouvoir préventif, nous avons cherché si le pouvoir curatif du sérum était diminué après son contact avec des levures.

Deux cobayes naganés reçoivent l'un 7 c. c. de sérum humain digéré au préalable 1/2 heure à 37° avec 10 grosses anses de levures lavées au liquide physiologique, l'autre 7 c. c. du même sérum non traité par les levures.

Le cobaye 64 avait été infecté de Trypanosomes 20 jours auparavant, le cobaye 74, 17 jours.

	Cob. 64 (sérum traité par levures.	Cob. 74 (sérum non traité.	Examen en préparation fraîche.
Avant l'injection.	121.875	46.875	
Après 24 heures.	0	21.875	
— 48 —	0	0	
— 3 jours.	0	0	
— 4 —	0	28.125	1 Trypanosome chez le cob. 64.
— 5 —	0	118.750	1 — — 64.
— 6 —	0	621.875	1 — — 64.
— 7 —	40.625	Meurt.	

Nous avons répété cette expérience avec du sérum digéré avec des doses plus considérables de levures formant une émulsion très épaisse.

Le cobaye 75 était infecté depuis 13 jours, le cobaye B depuis 20 jours.

	Cobaye 75 (sérum traité par levures).	Cobaye 76 (sérum non traité).
Avant injection.	234.375	365.625
Après 24 heures.	0	0
— 2 jours.	0	0
— 4 —	0	0
— 6 —	0	6.250

La digestion prolongée du sérum avec les levures ne lui enlève donc nullement la propriété de faire disparaître les Trypanosomes du sang. Ce fait est bien en rapport avec ce que l'on a constaté au sujet du pouvoir préventif qui persiste dans ces conditions.

3. *Le sérum humain qui a été en contact avec des Trypanosomes conserve-t-il ses propriétés curatives ?*

On prépare les deux mélanges suivants :

A. 5 c. c. sérum fœtal + 2 c. c. dépôt de Trypanosomes obtenu par centrifugation.

B. 5 c. c. sérum fœtal + 2 c. c. de liquide physiologique.

Les mélanges sont laissés à 37° pendant 4 heures; on centrifuge A, puis les mélanges sont injectés respectivement aux cobayes 91 et 92 sous la peau. Les deux cobayes étaient infectés depuis 6 jours.

	Cobaye 91 (sérum digéré avec Trypanosomes).	Cobaye 92 (sérum non digéré).
Avant l'injection.	90.625	90.625
Après 17 heures.	0	0
— 2 jours.	0	0
— 4 —	0	0

Les animaux sont restés indemnes de Trypanosomes pendant 5 jours; ils sont morts à cette date.

4. Nous avons également fait quelques essais en vue de rechercher *si le sérum de lapin immunisé contre le sérum humain est capable de neutraliser l'action curative de ce dernier lorsqu'on injecte les deux sérums mélangés.*

MM. Laveran et Mesnil[1] rapportent les résultats d'une expérience instituée en vue de répondre à cette question. Ayant injecté à plusieurs reprises du sérum humain à un animal atteint de nagana, *ils n'ont pu constater que ces injections donnaient lieu à la production d'un anticorps neutralisant à la longue le principe actif du sérum.*

En présence des résultats assez constants obtenus avec des mélanges analogues éprouvés au point de vue de leur pouvoir préventif, nous pouvions nous attendre à les trouver inactifs également au point de vue de leur action curative appréciée par l'abaissement du nombre des Trypanosomes dans le sang.

Or, dans la plupart des essais, la chute du nombre des parasites a été aussi rapide quand on injectait les deux sérums chez un animal nagané que dans le cas où l'on traitait l'animal par du sérum humain seul.

2 cobayes (25 et 27), fortement infectés, reçoivent en même temps dans le péritoine, 5 c. c. de sérum humain ; chez un 3e cobaye (26), le sérum humain est additionné au préalable de 1 c. c. de sérum antihumain.

Nombre des parasites.	Sérum humain + sérum antihumain. (Cob. 26.)	Sérum humain.	
		Cob 27.	Cob. 26.
Avant l'injection.	584.375	518.750	384.375
Après 5 heures.	400.000	484.375	418.750
— 24 —	325.000	234.375	156.250
— 30 —	109.375	125.000	75.300
— 45 —	48.875	18.750	9.375
— 54 —	25.000	6.250	0
— 3 jours.	50.000	6.250	0
— 4 —	212.500	48.750	3.125
— 5 —	350.000	38.500	9.375

1. Laveran et Mesnil, *Ann. Inst, Pasteur*, t. XVI, 1902, p. 803.

Comme on le voit, une diminution du nombre de Trypanosomes s'est produite rapidement après injection du mélange de sérum humain et de sérum antihumain ; néanmoins, en poursuivant les numérations pendant plusieurs jours, on constate que les parasites redeviennent nombreux et en bien moins de temps chez ce cobaye que chez les deux autres.

Il semble donc que l'activité de la substance curative, imparfaitement neutralisée, s'est épuisée plus rapidement chez lui que chez les deux autres animaux.

Plusieurs expériences du même genre ont donné des résultats analogues. Nous rapportons dans le tableau ci-dessous les numérations faites chez deux autres cobayes.

L'un (113) avait reçu 6 c. c. de sérum fœtal + 4 c. c. de sérum antihumain, l'autre (114) 6 c. c. de sérum fœtal + 4 c. c. de liquide physiologique en injection intrapéritonéale :

	Serum humain + sérum antihumain (Cob. 113.)	Sérum humain (Cob 114.)	Examen en préparat fraîches.
Avant l'injection.	115.625	78.125	
Après 12 heures.	168.750	12.500	
— 24 —	37.000	0	
— 34 —	0	0	
— 2 jours.	0	0	

Dans cet essai, la dose de sérum antihumain a été plus forte que dans l'essai précédent (4 c. c.); la chute du nombre des Trypanosomes est moins rapide que chez le témoin, mais, néanmoins, après 34 heures, les parasites ont presque tous disparu.

Ces expériences montrent donc qu'un mélange de sérum humain et de sérum antihumain, qui paraît bien neutre et qui est inactif quand on examine son pouvoir préventif, contient néanmoins une quantité encore appréciable de substance active puisque ce mélange est manifestement curatif.

CONCLUSIONS

1. Le sérum humain, comme l'ont reconnu les premiers MM. Laveran et Mesnil, possède une action préventive certaine et une action curative limitée contre l'infection de la souris par le Trypanosome de Bruce. Il exerce la même action préventive contre l'infection du cobaye par ce parasite, mais, pour que cette action se manifeste chez cet animal, il faut se

placer dans certaines conditions, telles que le contact prolongé des parasites avec le sérum à la température de l'étuve, l'injection du mélange sous la peau, etc.

2. Le sérum humain, digéré à 37° avec des Trypanosomes, ne perd pas ses propriétés préventives et curatives ; les parasites qui y ont séjourné ont conservé toute leur infectiosité.

3. Le sérum est sans activité au point de vue préventif quand il a été chauffé à une température voisine de 64° et quand il a été traité par un alcali. Il garde ses propriétés après avoir été en contact avec des levures.

4. Un mélange de sérum humain et de sérum antihumain est dépourvu de toute action protectrice. L'action curative de ce mélange n'est pas supprimée; elle est seulement diminuée.

5. D'autre part des sérums d'espèces animales diverses, additionnés ou non de leur antisérum, sont aussi capables de dépouiller le sérum humain de son pouvoir préventif.

6. La substance préventive se comporte comme une globuline; elle est précipitée par le sulfate de magnésie à saturation.

7. Le sérum humain n'agit ni préventivement ni curativement par un mécanisme analogue à celui des sérums hémolytiques, avec le concours d'une alexine et d'une sensibilisatrice. La perte de ses propriétés par le chauffage, par le vieillissement (Laveran et Mesnil), par l'action des alcalis peut s'expliquer autrement que par une destruction de l'alexine.

L'absence de toute fixation *in vitro* par les Trypanosomes d'une substance à laquelle le sérum devrait son activité, de même que l'action négative des levures à ce point de vue, et l'impossibilité de réactiver le sérum chauffé au moyen de sérum humain fœtal ou de sérums d'autres espèces animales, plaident encore en faveur de l'hypothèse d'une substance agissant sans l'intermédiaire d'une alexine.

8. Le sérum humain ne manifeste aucune propriété opsonique ou cytotropique vis-à-vis des Trypanosomes. En tout cas, il ne modifie pas les parasites de manière à en faire une proie facile pour les leucocytes.

Contribution à l'étude des Trypanosomiases de l'Afrique occidentale.

QUELQUES MODIFICATIONS DE VIRULENCE

Par M. CAZALBOU

Vétérinaire en 1er au 10e régiment d'artillerie.

Les recherches poursuivies pendant ces dernières années, en Afrique occidentale, ainsi que les travaux effectués par M. Laveran [1] à l'Institut Pasteur, ont démontré que les Trypanosomiases devaient être placées au premier plan du cadre nosologique de cette vaste contrée. C'est ainsi qu'on connaît actuellement :

1° La Mbori (*Trypanosoma Evansi* var.) qui frappe les Camélidés et les Equidés du Sahara et du Sahel ;

2° Le Tahaga (*Tr. soudanense*) qui, d'après les recherches de M. Laveran, doit être assimilé aux trypanosomiases algériennes connues sous les noms de El Debab et de Mal de la Zousfana ;

3° La Souma (*Tr. Cazalboui*) des Equidés et des Bovidés du Soudan ;

4° Le Baléri (*Tr. Pecaudi*) des Equidés et probablement aussi des Bovidés soudanais ;

5° La Trypanosomiase des chevaux de Gambie (*Tr. dimorphon*), signalée en divers points de la Guinée, de la Gambie et du Sénégal ;

6° La Trypanosomiase humaine (*Tr. Gambiense*), assez rare dans l'ensemble de la contrée étudiée.

On sait que, pour une espèce pathogène donnée, la virulence est variable : 1° avec l'espèce animale inoculée ; 2° avec l'origine du Trypanosome étudié ; 3° enfin, quoiqu'à un degré assez faible, avec les passages par espèces animales déterminées [2].

Si ces deux premières influences sont bien connues, des résultats multiples et diffus ont été publiés sur le compte du troisième facteur signalé.

Aussi croyons-nous devoir faire connaître certaines modi-

1. A. Laveran, Sur les Trypanosomiases du Haut-Niger, ces *Annales*, mai 1907, et *Acad. des Sciences*, 29 juillet 1907.

2. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris, 1904.

fications de virulence constatées au cours d'expériences assez nombreuses effectuées en Afrique occidentale. Ces modifications ont été notées à l'occasion d'assez grands déplacements dans la colonie, qui ont mis dans nos mains des animaux d'origines diverses.

Les travaux ont porté sur les *Trypanosoma dimorphon*, *soudanense* et *Evansi* (var. Mbori) ; des résultats parfaitement comparables ont été obtenus.

I. *Trypanosoma dimorphon.*

Le 6 décembre 1903 [1], 16 chevaux du 2e escadron de spahis sénégalais partent en mission de Ségou à Friguiagbé, point terminus du railway de la Guinée française, par les hautes vallées du Niger et du Tankisso. Ils sont de retour à Ségou le 29 mars 1904. Sur cet effectif, deux chevaux rentrent atteints de la Trypanosomiase des chevaux de Gambie ; l'un d'eux (A) meurt le 5 novembre 1904 ; l'autre, paraissant en voie de guérison, est réformé et vendu le 27 mars 1905.

A. Étude expérimentale sur le chien

No 1. Le virus est inoculé à une chienne de 4 mois, en parfait état, originaire de Ségou. A cet effet, on injecte dans le tissu conjonctif du pli du flanc 10 c. c. de sang du cheval A. Incubation de 8 jours ; les premiers parasites apparaissent avec une température de 39°,5 ; on note ensuite une fièvre rémittente ne dépassant pas 40° ; la mort survient le 85e jour, à 37°,5. Les Trypanosomes, assez fréquemment visibles, sont plus nombreux dans les derniers jours.

Symptômes : amaigrissement visible dès le 15e jour, bientôt suivi de la saillie des côtes et d'un développement anormal de l'abdomen. Puis, faiblesse accusée, décoloration progressive des muqueuses ; dilatation continue de l'abdomen due à l'hypertrophie de la rate et à une légère ascite. L'appétit n'a pas subi d'altérations sensibles ; de temps en temps, apparaît de la diarrhée noirâtre. Dans la dernière semaine, on assiste à l'apparition de désordres nerveux inattendus. Il y a dysphagie ; au moment où le bol alimentaire va traverser le pharynx, la malade est secouée de violents mouvements de vomissement ; pendant ces efforts, elle marche automatiquement en gémissant, pour aboutir au rejet de matières liquides verdâtres. Elle recommence le repas interrompu et les mêmes phénomènes se reproduisent. Les jours suivants, le tableau s'aggrave et des crises épileptiformes apparaissent. En décubitus latéral, la malade éprouve de violentes contractions cloniques généralisées ; les mâchoires battent l'une contre l'autre et blessent la langue,

1. L. Cazalbou, Sur l'existence de *Trypanosoma dimorphon* en Guinée française, *Biologie*, 4 mars, 1905. — Du même, Étude expérimentale de *Trypanosoma dimorphon* chez le chien, *Soc. Cent. de Méd. Vét.*, 30 juillet 1906, rapport Vallée.

la salive est abondante, les yeux sont fixes; les membres, rigides, se meuvent d'abord violemment et en tous sens, puis, quand l'attaque s'atténue, ils reproduisent l'allure du trot. Peu à peu, l'excitation disparaît et tout rentre dans l'ordre; au bout de quelques instants, la malade se laisse choir tout à coup, la queue se relève doucement et les convulsions se répètent, avec les mêmes plaintes; bientôt arrive l'agonie. Sous les efforts des contractions musculaires généralisées, se produit une expulsion de matières diarrhéiques noirâtres et la mort ne tarde pas à clôturer la scène.

Lésions : la rate présente un développement énorme. Elle pèse 155 grammes pour un animal de 7k,100. Elle est régulièrement hypertrophiée et mesure 27 centimètres de long sur 9 centimètres dans sa plus grande largeur. Le foie est légèrement grossi; la vésicule biliaire est distendue par de la bile noirâtre; le gros intestin et le rectum renferment une certaine quantité de matières colorées en noir verdâtre et diffluentes; dans la cavité abdominale, 20 c. c. de liquide épanché, jaune citrin, limpide; lésions de péritonite chronique sur la séreuse du plancher abdominal.

Le système lymphatique ganglionnaire est envahi en entier : ganglions cervicaux, sous-glossiens, pré-scapulaires, poplités, grossis; sur la coupe, la section est rougeâtre ou grisâtre foncé.

N° 2. — Chien, 2 mois et demi, originaire de Ségou; reçoit 0,75 c. c., de sang du chien précédent, prélevé dans la jugulaire tout de suite après la mort. Les Trypanosomes apparaissent le 11e jour et offrent ensuite une évolution sub-continue; ils sont plus nombreux dans les derniers jours. Température maxima 39°,5 avec une poussée à 40°, la veille de la mort. L'animal succombe le 29e jour.

Symptômes : en dehors de l'amaigrissement, déjà sensible au 15e jour, on constate, vers le 20e jour, des efforts de vomissements accompagnés de diarrhée verte ou noire, de la distension des parois abdominales. Le dernier jour, on note de la chorée diaphragmatique, bientôt suivie de contractions musculaires généralisées; pendant l'agonie, abondante diarrhée noirâtre.

Lésions : développement considérable de la rate (18 centimètres de long) et hypertrophie ganglionnaire générale.

Au moment de la mort (4 février 1905), nous avions quitté Ségou pour effectuer une mission d'études dans le Moyen-Niger. Pour conserver *Tr. dimorphon*, venu fortuitement de la Guinée au Soudan, nous l'avons entretenu sur des chiens achetés dans toute la vallée du fleuve entre Ségou et Niamey. Les divers degrés de résistance offerts par ces animaux, d'origines diverses, constituent précisément l'un des points intéressants de ce travail.

N° 3. — Chien, 8 mois, originaire de Nou, près de Diafarabé, en bon état. Inoculé dans le tissu conjonctif du pli du flanc le 4 février 1905, avec un tiers de c. c. de sang du n° 2, prélevé dans la jugulaire deux heures après la mort. Incubation de 7 jours; Trypanosomes abondants, surtout les 14e et 15e jours, ainsi que dans la dernière période; pas d'hyperthermies accusées; température maxima : 39°,5.

Vers le 15e jour, on remarque de la distension abdominale; sur la fin, convulsions et plaintes analogues à celles déjà signalées. Les contractions

provoquent l'expulsion d'une urine fortement colorée et de matières diarrhéiques abondantes et verdâtres; mort le 23e jour.

Lésions : rate considérable (30 centimètres de long sur 12 centimètres dans sa plus grande largeur). La plupart des ganglions lymphatiques sont hypertrophiés.

N° 4. — Chien âgé de 5 mois, en assez mauvais état, originaire de Farabongo (sur le marigot méridional de Goundam). Reçoit, le 26 février 1905, 2 c. c. de sang du n° 3, prélevé dans la jugulaire au moment de la mort.

On assiste ici au développement d'un type aigu de l'affection. Les hématozoaires apparaissent le 5e jour et présentent une évolution continue; la température se meut entre 38° et 39°. Peu de symptômes marqués, en dehors d'une certaine tristesse ; la mort survient le 10e jour, après une agonie de 3 heures, au cours de laquelle se produisent les désordres nerveux déjà signalés, accompagnés de diarrhée et de plaintes.

Rate hypertrophiée; ganglions inguinaux, poplités, pré-scapulaires grossis.

N° 5. — Chien âgé de 5 mois, en mauvais état, originaire de Balé (en aval de Bambo). Inoculé le 7 mars 1905 dans le pli du flanc, avec 4 c. c. de sang du chien précédent prélevé dans la jugulaire au moment de la mort. Les parasites apparaissent le 4e jour et sont assez nombreux jusqu'aux derniers moments; mort le 11e jour; ici encore nous constatons un type aigu. La température est ascensionnelle de l'invasion à la mort, où elle atteint 40°.3. La fin est précédée de contractions épileptiformes et d'évacuations diarrhéiques noirâtres.

Hypersplénie accusée; la rate mesure 20 centimètres sur 6; les ganglions lymphatiques sont légèrement grossis.

N° 6. — Chien âgé de 4 mois, originaire de Bourem, en bon état d'entretien. Inoculé le 19 mars 1905 avec 5 c. c. de sang du n° 5, puisé à la mort dans la jugulaire. Incubation de 4 jours; Trypanosomes surtout nombreux aux derniers moments; la mort survient le 11e jour; les symptômes terminaux sont toujours les mêmes : convulsions, plaintes, battement des mâchoires, diarrhée noirâtre.

Rate de 16 centimètres sur 6; hypertrophie des ganglions lymphatiques.

Nos 7 à 17. — 11 chiens ont été encore inoculés dans les mêmes conditions, c'est-à-dire avec du virus prélevé à la mort des malades : chez tous, on a pu constater une évolution parasitaire sub-continue avec des hématozoaires plus nombreux dans les derniers jours, des symptômes nerveux semblables et des lésions spléniques et ganglionnaires accusées.

Nous résumons l'ensemble de l'expérience dans le tableau suivant.

Nos d'ordre.	Age (mois)	Origine.	Quantité de sang inoculée (c. c.).	Durée de l'incubation (jours)	Durée de de la maladie (jours).
Chien n° 1..........	4	Ségou.	10	8	84
— 2..........	2 1/2	Ségou.	0,75	11	29
— 3..........	8	Nou.	1/3	7	23
— 4..........	5	Farabongo.	2	5	10

Chien n°	5..........	5	Balé.	4	4	11
—	6..........	4	Bourem.	5	4	11
—	7..........	8	Dountzou.	1/2	4	11
—	8..........	6	Nyamey.	10	9	18
—	9..........	5	Nyamey.	1	5	8
—	10..........	3	Koriouné.	Quelques gouttes.	4	10
—	11..........	7	Niafounké.	1/2	13	69
—	12..........	5	Dountzou.	1/2	6	10 1/2
—	13..........	7	Eguedèche.	1	6	9
—	14..........	10	Dountzou.	1/4	6	12
—	15..........	10	Ségou.	1	14	88
—	16..........	14	Gao.	1/3	8	19
—	17..........	3 1/2	Ségou.	1	16	34

Rappelons d'abord qu'au moment de la mort les Trypanosomes sont généralement nombreux dans le sang. La quantité de sang inoculée est donc, de ce fait, un bon élément d'appréciation de la richesse virulente du liquide.

L'examen du tableau permet les remarques suivantes :

1° La quantité de virus inoculée dans le tissu conjonctif sous-cutané ne paraît pas avoir d'influence sur le type clinique de l'affection. C'est ainsi qu'une injection de 10 c. c. entraîne une affection subaiguë (n° 8-18 jours) et que quelques gouttes seulement de sang virulent provoquent le développement d'un type aigu (n° 10-10 jours);

2° L'âge n'apporte pas d'influence appréciable sur la durée de la maladie, tout au moins sur des animaux de 2 à 14 mois, puisqu'une chienne de 8 mois meurt en 11 jours (n° 7) et un chien de 4 mois, en 84 jours (n° 1):

3° La dernière période est marquée par des désordres nerveux, se traduisant par des plaintes, des convulsions, des évacuations diarrhéiques bilieuses; ces phénomènes sont plus bruyants dans les formes chroniques ;

4° On trouve constamment de l'hypersplénie et de l'hypertrophie ganglionnaire ; ces lésions sont d'autant plus accusées que l'affection présente une plus longue durée ;

5° Sur les 17 animaux morts de Trypanosomiase, il s'est produit 9 cas du type aigu (mort survenue du 8e au 11e jour), nos 4,5,6,7,9,10,12,13,14 ; on a observé 4 cas du type subaigu (de 18 à 29 jours), nos 2,3,8,16. et enfin 4 cas du type chronique (de 34 à 88 jours), nos 1,11,15,17 ;

6° Tous les types aigus se sont manifestés sur des animaux d'origine saharienne (vallée aval de Tombouctou).

Tous les types chroniques ont été constatés sur des chiens achetés entre Ségou et Tombouctou.

Des résultats semblables ayant été obtenus avec *Trypanosoma soudanense* et *Tr. Evansi* (Mbori), nous verrons, au cours de cette étude, comment ces faits peuvent être interprétés.

B. Étude expérimentale sur le cheval.

Un cheval âgé de 6 ans, en bon état, originaire de Bandagara, reçoit, le 10 octobre 1905, dans la jugulaire, 0 c. c. 5 de sang du chien n° 15, assez pauvre en parasites; l'animal s'infecte.

Les Trypanosomes apparaissent le 12e jour et, à plusieurs reprises, pendant les deux premiers mois de l'infection ; ils deviennent ensuite plus rares. On note de la fièvre intermittente avec une température maxima de 40°, et quelques minimums à 36°-35°,3.

La symptomatologie est très discrète. On note, à de rares intervalles, de légers relâchements des testicules et un larmoiement à peine sensible.

A notre départ de Ségou, 5 mois et demi après l'infection, le malade était toujours infecté et n'avait pas sensiblement maigri. Depuis cette époque et jusqu'au 1er août 1906, on a constaté, à des intervalles assez longs, des accès de fièvre allant à 39°,5, semblant indiquer que l'infection subsistait.

C. Étude expérimentale sur le rat gris.

Un rat gris reçoit, dans le tissu conjonctif hypodermique, un quart de c. c. de sang du chien n° 1, prélevé le 84e jour de la maladie; les parasites apparaissent le 9e jour, augmentent de nombre les jours suivants jusqu'à la mort qui se produit le 19e jour. — Hypersplénie très marquée.

Deux rats gris inoculés sur le chien n° 17, au 21e jour de la maladie, présentent une incubation respective de 7 et 9 jours; ils succombent les 29e et 30e jours. Rate hypertrophiée.

Étude du parasite. — Pas plus que Laveran, nous n'avons trouvé les formes signalées d'abord par Dutton et Todd. Nous avons constaté dans de nombreuses préparations une petite forme de 12 à 13μ environ de long sur 1μ,5 de large et une forme longue de 25μ en moyenne sur 1μ,5.

Le protoplasme se remarque par son affinité pour le bleu; des amas de matière cyanophile existent assez souvent dans les formes chroniques. Il n'a jamais été vu de flagelle libre, ni dans la grande ni dans la petite forme ; la membrane ondulante est toujours peu marquée. La forme courte s'est montrée plus abondante dans le type aigu et la forme longue, plus fréquente dans le type chronique. Enfin, un dernier caractère propre à *Tr. dimorphon* a été noté : la progression spéciale du parasite dans le sang frais rappelant assez exactement les mouvements du têtard.

La description récente de *Tr. Pecaudi* [1] permet de penser que Dutton et Todd, Martin [2], Thiroux et Teppaz [3] ont eu affaire, pour une partie, à *Tr. Pecaudi.*

II. *Trypanosoma soudanense* [4]. *Première série.*

En 1905, à notre passage à Gargouna, centre d'élevage, à 50 kilomètres environ en aval de Gao, on nous apprend que 11 juments poulinières sont mortes depuis un an. Parmi celles qui restent, la plupart ont déjà avorté. Quelques poulains présentés sont en mauvais état et plusieurs paraissent avoir leurs jours comptés.

Sur l'un de ces derniers, âgé de 2 ans, en état de maigreur accusée, on remarque une légère parésie de l'arrière-main; la conjonctive est blanc porcelaine; l'examen du sang permet d'apercevoir quelques rares Trypanosomes.

L'affection est désignée par les Songoï de la région sous le nom de *Tahaga.*

A. Étude expérimentale sur le chien.

N° 1. — Une chienne de 8 mois, originaire de Gao, reçoit, le 17 avril 1905, dans le tissu conjonctif du pli du flanc, 5 c. c. de sang du poulain signalé plus haut. Le 8e jour, la température s'élève à 40°,3, mais on ne peut apercevoir de parasites: ceux-ci ne se laissent surprendre, en petit nombre, que le 18e jour. A partir de ce moment, on constate leur présence par périodes assez rapprochées; ils deviennent assez nombreux à la mort. La température se maintient entre 39° et 40° et elle est de 37°,5 à la mort.

Dès les premiers accès, on note de la tristesse et de l'inappétence; diarrhée verdâtre le 28e jour; yeux chassieux. Au début du troisième mois, se montre, à gauche, une kératite qui se développe insensiblement; 15 jours plus tard, la cornée droite est prise à son tour.

En fin juillet, les kératites sont totales. Le 17 août, on note une large plaque œdémateuse sur le dos et le rein, qui persiste pendant quelques jours. Dans les derniers jours, l'animal, très triste, est constamment couché; la mort se produit le 135e jour (29 août 1905).

N° 2. — Le 1er août 1905, on inocule un chien âgé de 7 mois, originaire de Ségou, en bon état d'entretien, avec 1 c. c. de sang prélevé sur le n° 1, alors arrivé au 106e jour de sa maladie.

1. A. Laveran. *Académie des Sciences*, 4 février 1907, et *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1907.
2. G. Martin, *Les Trypanosomiases de la Guinée française*. Paris, 1906.
3. Thiroux et Teppaz. Les Trypanosomiases au Sénégal, ces *Annales*, mars 1907.
4. A. Laveran, Sur les Trypanosomiases du Haut-Niger, ces *Annales*, mai 1907, et *Acad. des Sciences*, 29 juillet 1907.

Les premiers Trypanosomes, rares, apparaissent le 16e jour, on les constate ensuite assez fréquemment; dans les derniers jours ils sont nombreux. Fièvre intermittente assez peu accusée, avec quelques maximums à 40° ; le malade meurt le 75e jour, à 34° 2.

On a noté une infiltration de la conjonctive le 18 août et un amaigrissement rapide.

Foie et rate légèrement grossis.

N° 3. — Le même jour (1er août 1905) on inocule une chienne de 8 mois, originaire de la zone endémique (Gao) avec 1 c. c. de sang du chien n° 1. Les parasites apparaissent le 15e jour, à 40° 8. Évolution sub-continue, mais Tryp. peu nombreux, plus abondants aux derniers jours. La température s'élève plusieurs fois à 40° — 40°4, pour baisser sur la fin.

La mort survient le 120e jour (28 novembre 1905) à 34°.

On a noté des vomissements bilieux assez pénibles, au moment de l'invasion, un amaigrissement rapide, de la diarrhée.

Rate de 70 grammes pour un animal de 8 k. 750.

N° 4. — Une chienne de dix mois, en bon état, originaire de Korienza, est inoculée le 29 août 1905 avec 4 c. c. de sang du chien n° 1, puisés à la mort, dans la jugulaire.

Incubation de 6 jours; évolution parasitaire semblable à celle du chien précédent; plusieurs accès fébriles avec une température de 40°-40°, 4. Dans les derniers moments, la température baisse et tombe à 34°. 6, à la mort, survenue le 91e jour (27 novembre 1905).

On a noté une légère kératite à gauche, le 11 novembre, qui est totale le 24 novembre. Amaigrissement rapide.

Rate de 120 grammes; poids de l'animal : 6 k. 400.

N° 5. — Un chien de 7 mois, originaire de Ségou, reçoit, à la mort du n° 4, 2 c. c. de sang de ce dernier. Incubation de 5 jours; Trypanosomes nombreux à l'invasion, avec 39°.5; à la mort, survenue le 7e jour, la température est de 35°, 3.

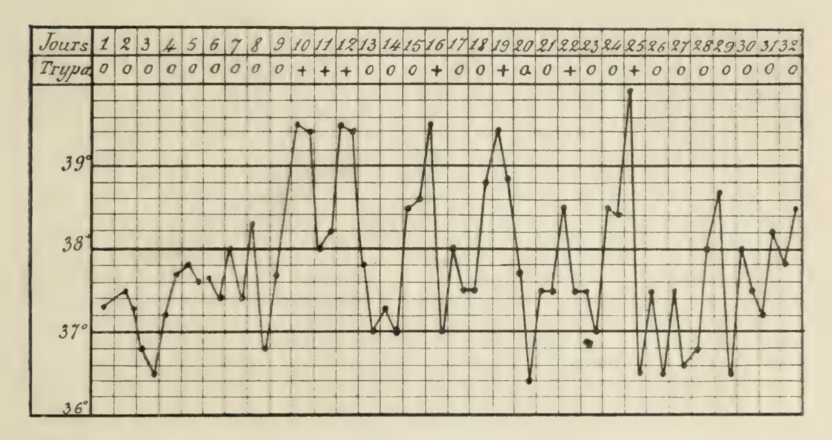
Rate : 20 grammes; poids de l'animal : 9 k. 100.

Remarques. — On peut faire ici des remarques semblables à celles qui ont été fournies par l'étude de *Tr. dimorphon*. Si le chien n° 1, originaire de la zone endémique, inoculé sur le poulain de Gargouna, a succombé le 135e jour, le n° 4, originaire de Korienza, et inoculé à la mort du n° 1, est mort le 91e jour ; — le n° 5, originaire de Ségou et inoculé sur le précédent à la fin de sa maladie, a disparu le 7e jour. Or, il est fort probable que la région de Ségou est indemme de *Tr. soudanense ;* quant à la zone intermédiaire de Korienza, elle est peut-être en partie infectée.

Les nos 2 et 3, inoculés sur le n° 1, au 106e jour de sa maladie, succombent, l'un de Ségou, au 75e jour, l'autre de la zone d'endémicité, au 120e jour seulement.

B. Étude expérimentale sur le cheval.

Un cheval de 3 ans, originaire de la région de Ségou, est inoculé, le 10 octobre 1905, dans la jugulaire, avec 1,5 c. c. du sang de la chienne nº 4.



Tahaga expérimental du cheval. — Premier mois de la maladie.

L'incubation est de 10 jours ; les parasites apparaissent assez nombreux, puis, on les constate au moment des hyperthermies (39°,5 — 40).

Comme symptômes, on a noté un léger larmoiement intermittent, quelques pétéchies en décembre. Le 27 du même mois, on remarque une éruption papuleuse légère, siégeant en diverses régions du corps et rappelant de très près celle que nous avons décrite dans la Mbori [1]. L'amaigrissement sensible en décembre, se poursuit régulièrement jusqu'à la mort, arrivée le 240e jour (8 juin 1906).

Comme on le voit, le tableau symptomatique a été discret et, au point de vue clinique, il donne l'idée d'une Mbori atténuée.

Un jeune chien, inoculé à notre départ de Ségou (mars 1906) sur ce cheval, est arrivé guéri à l'Institut Pasteur. Il est probable que la quantité de sang employée (3 c. c.) a été insuffisante à provoquer l'infection.

C. Étude expérimentale sur le rat gris.

Chez le rat, l'évolution parasitaire du Tahaga expérimental, rappelle celle de la Mbori : dès l'invasion, les parasites sont nombreux et leur nombre augmente jusqu'à la mort.

Deux rats, inoculés dans le pli du flanc, présentent une incubation de 5 et 7 jours; ils succombent les 13e et 21e jours. Un rat, nº 3, inoculé dans la même région, a une incubation de 8 jours et meurt le 19e jour; mais le nº 4, inoculé sur le précédent à la mort, succombe le 7e jour.

1. L. Cazalbou, Le Surra en Afrique, *Revue gle de méd. vétér.*, 15 oct. 1906.

6 autres rats meurent les 12e, 18e, 17e, 19e, 15e, 16e jours après l'injection du virus, et après une incubation variant de 6 à 8 jours. Tous ont été inoculés sur le cheval cité plus haut (sauf le no 4), dans le même mois.

2. — *Trypanosoma soudanense. Deuxième série.*

A notre passage à Gao (19 avril 1905), sur 5 dromadaires existant dans les troupeaux de ce poste (2 âgés et 3 jeunes), l'un des jeunes venait de mourir.

Les quatre qui restent sont très amaigris ; ils sont couverts de stomoxes, ainsi d'ailleurs que les bœufs et les chevaux de la région ; les cinq dromadaires sont présents à Gao depuis au moins un an et demi.

Chez ces malades, en dehors de l'amaigrissement progressif, on n'a constaté qu'un peu de larmoiement intermittent.

A. Étude expérimentale sur le chien.

No 1. — Du sang prélevé à la veine de l'éperon d'un jeune dromadaire est inoculé, le 19 avril 1905, dans le pli du flanc, à une chienne de 8 mois originaire de Gao et sœur de la chienne no 1 de la série précédente.

L'incubation est de 16 jours; l'invasion se révèle le 4 juin suivant par la présence d'assez nombreux parasites, à 39o,5. La température s'élève à plusieurs reprises à 40o en août, à 40o,5 en septembre. Elle s'abaisse brusquement dans les derniers jours, et, au moment de la mort, elle est à 34o,5. La fin se produit le 6 octobre 1905, au 171e jour.

L'évolution parasitaire, sub-continue dans les premières périodes, devient ensuite permanente.

On a noté comme symptômes : des vomissements et des plaintes, du larmoiement, le 9 juin; une ophtalmie externe avec kératite, le 8 juillet; une plaque œdémateuse sur le rein et un œdème de la paupière droite, le 10 août; un œdème de la vulve, les jours suivants. On a également remarqué une arthrite du carpe droit, du 23 août au 10 septembre, un œdème marqué de la croupe et de la base de la queue (10 septembre) des kératites généralisées, le 15 septembre; en octobre, du larmoiement bilatéral prononcé. Affaiblissement marqué, plaintes fréquentes, légère inconscience, légère hyperesthésie cutanée. La malade est abattue, *in extremis*, le 6 octobre 1905.

Rate triple du volume normal.

No 2. — Le 1er août 1905, on inocule un chien âgé de 8 mois, originaire de Dountzou, avec 1 c. c. de sang du chien no 1, arrivé alors au 188e jour de sa maladie. Les parasites n'apparaissent que le 20e jour, en petit nombre et à une température de 39o,5. D'abord assez peu nombreux,

ils sont ensuite fréquemment visibles. Quelques hyperthermies à 40°. Sur la fin la température s'abaisse et la mort survient le 8 mai 1906, au 269e jour en hypothermie (34°).

On a noté une myosite des fléchisseurs de l'avant-bras, du 20 au 28 août. L'amaigrissement, progressif jusqu'en février, paraît s'arrêter pendant quelques semaines à cette époque et le malade reprend un peu d'embonpoint, mais cette amélioration est assez éphémère.

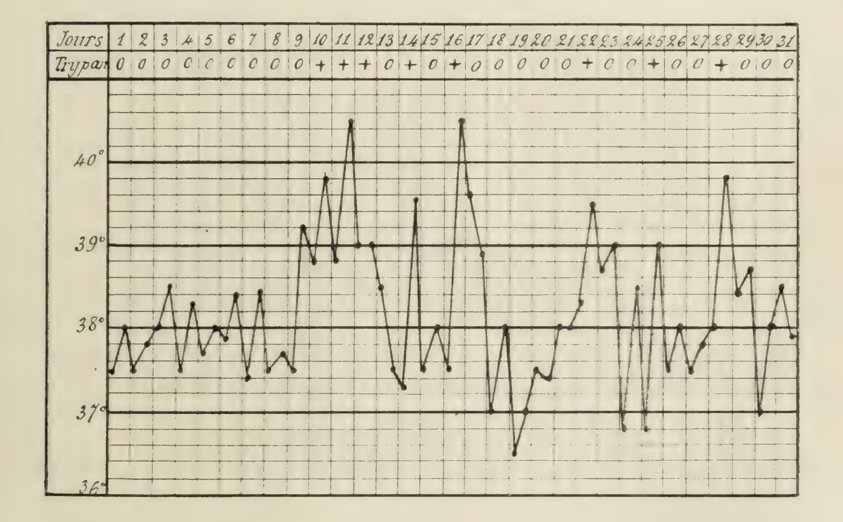
N° 3. — Un chien âgé de 7 mois, originaire de Niafounké, en bon état, est inoculé, le 1er août 1905, avec 1 c. c. de sang du n° 1. Même évolution parasitaire et thermique. Le malade meurt le 138e jour, à 35°, 4; la veille, on a noté 33°, 7.

Rate : 102 grammes pour un poids de 7 kilogr.

N° 4. — Chien de 5 mois, originaire de Ségou, en bon état, inoculé le 6 octobre avec 5 c. c. de sang du chien n° 1 prélevé à la mort, dans la jugulaire. Incubation de 10 jours; deux accès fébriles à 40°; mort le 29e jour, à 35°.

Rate normale.

N° 5. — Chien de 3 mois, originaire de Ségou, en bon état. Reçoit, le 3 novembre 1905, 10 c. c. de sang du précédent, puisé à la mort, dans la



jugulaire. Le lendemain, la température s'élève à 40°,5 et tombe le deuxième jour, dans la soirée, à 34°. La mort se produit ici au bout de deux jours et demi.

N° 6. — Un chien de même âge que le précédent, né à Ségou, reçoit 10 c. c. de sang du n° 5, à la mort de ce dernier. Dans les premiers jours, on marque deux accès de fièvre à 40°, puis la température baisse régulièrement, atteint 34°. Le malade succombe à 36° le 16e jour, avec des parasites nombreux.

B. Etude expérimentale sur le cheval

Un cheval de 3 ans, acheté à Ségou, en bon état, est inoculé dans la jugulaire, le 10 octobre avec un tiers de c. c. du chien nº 2. Il ne se produit pas d'infection.

Le 13 décembre, on injecte à nouveau, dans le même lieu, 4 c. c. de sang de même origine, assez riche en Trypanosomes.

Les parasites apparaissent le dixième jour, en assez grand nombre et puis aux hyperthermies, en quantité variable.

On a constaté, de temps à autre, la présence de pétéchies: vers la fin janvier, une éruption papuleuse discrète, sur les régions supérieures du corps et à l'encolure. Amaigrissement progressif.

Le malade succombe au 154e jour, à la date du 15 mai 1906.

Un chien originaire de Ségou est inoculé sur le cheval le 10 mars et arrive infecté à l'Institut Pasteur le 3 mai suivant: il meurt le 85e jour (1).

C. Etude expérimentale sur le rat gris

Un rat nº 1, inoculé dans le tissu conjonctif avec quelques gouttes du sang du cheval, succombe le 14e jour, avec des Trypanosomes nombreux: incubation de 6 jours. Un rat nº 2 meurt le 25e jour, avec une incubation de 9 jours. Un rat nº 3, meurt le 12e jour, un rat nº 4 est sacrifié *in extremis* le 16e jour, mais son sang, inoculé à ce moment à un rat nº 5, provoque la mort au 9e jour.

Nous voyons ici encore que l'inoculation pratiquée avec du virus prélevé au moment de la mort donne une augmentation de virulence.

Comparaison entre ces deux séries expérimentales.

L'étude des deux séries expérimentales effectuées avec le Trypanosome des chevaux de Gargouna, d'une part, et avec le Trypanosome des dromadaires de Gao, d'autre part, autorise à penser qu'il s'agit d'une même espèce parasitaire. Au point de vue morphologique, on ne peut distinguer ces deux parasites l'un de l'autre. Au point de vue clinique, il n'existe pas de différence appréciable dans les manifestations offertes, soit chez le cheval, soit chez le chien ou le rat gris du Soudan.

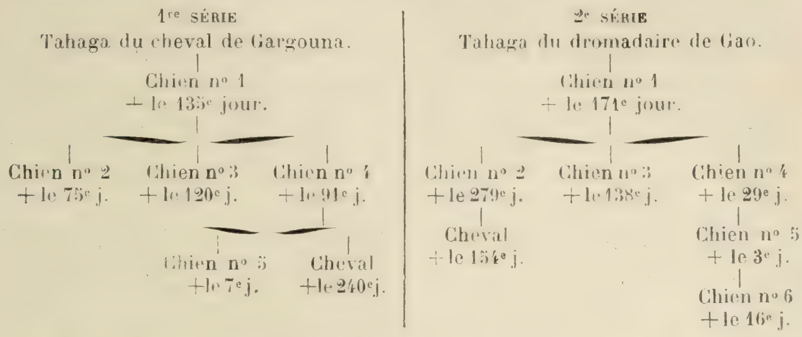
Dans ces deux séries, parfaitement comparables et synthétisées dans le tableau ci-dessous, on peut, de plus, remarquer:

1º Que les chiens de la zone d'endémicité (vallée saharienne du Niger) présentent une évolution très longue de la maladie ;

2º Que les chiens originaires des régions soudanaises offrent une résistance bien moins accusée, surtout quand les inoculations sont faites avec du sang prélevé au moment de la mort des malades, 1re série, nº 5 — 2e série, nos 4, 5, 5;

1. A. Laveran, Sur les Trypanosomiases du Haut-Niger, ces *Annales*, mai 1907.

3° Que sur les chiens inoculés avec du virus prélevé au cours de la maladie, on ne constate pas d'augmentation de virulence, quelle que soit l'origine des chiens mis en expérience. 1re série, nos 2 et 3. 2e série, nos 2 et 3.



On voit donc que, d'une manière générale, les chiens soudanais succombent à une évolution plus rapide que les chiens sahariens.

3° *Trypanosome de la Mbori.*
(Tr. Evansi var.)

A. Etude expérimentale sur le rat gris

En 1903, à Ségou, trois chevaux sont inoculés de la Mbori du dromadaire de Tombouctou [1]. Ce sont :

Caraïbe...........	Incubation de 5 j.	Mort le 136e jour.
Pompon...........	— 10	— 307e —
Condor...........	— 10	— 471e —

Au cours du développement morbide, on pratique, chez le rat gris du Soudan, une série d'inoculations hypodermiques dont les résultats sont consignés dans le tableau suivant.

Nos d'ordre.	Origine du virus.	Age de la maladie auquel le sang est prélevé.	Quantité de sang inoculée.	Date de la mort
Rat n° 1......	Caraïbe......	10e jour......		8e jour.
— 2......	—	10e —		8e —
— 3......	Pompon.....	10e —		8e —
— 4......	—	10e —	de	8e —
— 5......	Condor......	10e —		8e —
— 6......	—	10e —	quelques	8e —
— 7......	Caraïbe......	12e —		8e jour 1/2.
— 8......	Condor......	15e —	gouttes.	8e —
— 9......	Caraïbe......	47e —		9e jour.
— 10......	Pompon.....	89e —	à un c. c.	27e —
— 11......	—	115e —		22e —
— 12......	Condor......	155e —		19e —
— 13......	—	155e —		48e —

1. L. Cazalbou, Le Surra en Afrique, *Revue générale de médecine vétérinaire* 15 octobre 1906.

Ce tableau nous montre que le pouvoir virulent de la Mbori, pour le rat gris, s'atténue à mesure que se déroule l'affection chez le cheval producteur du virus.

En partant du rat n° 13, il a été possible de ramener la virulence à sa gravité première, par des passages en série dans cette même espèce, en ayant soin d'inoculer à la mort.

C'est ainsi	que le rat n° 13	meurt	le 48e	jour.
—	— n° 14	—	31e	—
—	— n° 15	—	20e	—
—	— n° 16	—	12e	—
—	— n° 17	—	8e	—

Rappelons qu'une augmentation sensible de virulence a été déjà obtenue avec le *Trypanosoma soudanense*, 1re série, n° 4, 2e série n° 5.

B. Etude expérimentale sur le chien

N° 1. — Chien âgé de 2 ans, en bon état, originaire de Tombouctou. Inoculé le 26 avril 1903 dans le tissu conjonctif hypodermique, avec 5 c. c. de sang largement parasité, prélevé sur un dromadaire atteint de Mbori.

Du 28 au 30 avril, engorgement œdémateux marqué de l'auge et de la gorge ; parasites nombreux. A partir de ce moment, évolution intermittente des hématozoaires, visibles en grand nombre au moment des hyperthermies qui peuvent aller à 40°,7.

L'engorgement de l'auge et de la gorge se reproduit les 12, 13 mai, les 23, 24 mai. Du 2 juin à la mort, en même temps qu'un œdème de la gorge, apparaît un volumineux engorgement du dos et des membres postérieurs. Pendant les vingt derniers jours, le malade est somnolent et constamment couché. Il succombe le 56e jour en hyperthermie et dans un état de maigreur très avancée.

On trouve à l'autopsie une infiltration séreuse du tissu conjonctif au niveau des régions engorgées ; les ganglions sous-glossiens, pharyngiens, pré-scapulaires, sous-lombaires, sont nettement grossis. Le foie et la rate paraissent normaux

N° 2. — Chienne âgée de 8 mois, en bon état. Inoculée le 26 avril 1903 à Tombouctou avec 1 c. c. de sang riche en parasites provenant du même dromadaire que pour le numéro précédent.

Le 28 avril, apparaît un œdème de la gorge et, le 30 avril, les Trypanosomes deviennent visibles. L'œdème de la gorge se montre à nouveau du 9 au 12 mai, les 22 et 23 mai, du 3 au 5 juin, du 13 au 17 juin, du 25 au 28 juin et enfin le 30 juin.

Evolution parasitaire, marche de la température semblables à celles du chien précédent. Une ascite se développe le 50e jour. La mort survient le 65e jour.

A l'autopsie, on note un piqueté hémorragique sur le péritoine pariétal et viscéral, 300 c. c. de liquide épanché dans la cavité abdominale, légère-

ment trouble et grisâtre. Le foie et la rate paraissent normaux. Atrophie musculaire marquée, ganglions de l'auge fortement grossis.

N° 3. — Chienne de 8 mois, originaire de Ségou, atteinte de maladie du jeune âge, à la période de début.

Inoculée le 8 juillet 1903 avec 10 c. c. de sang provenant d'une antilope atteinte de Mbori expérimentale (voir *infra*). Ces Trypanosomes apparaissent le 11 juillet; on assiste à une évolution parasitaire continue et intense jusla mort, survenue le 30e jour.

Amaigrissement rapide. Lésions de pleuro-pneumonie et d'hépatite pasteurelliques : rate hypertrophiée et, par places, bosselée.

N° 4. — Chien âgé de 15 mois, originaire de Ségou, en excellent état. Inoculé le 10 août avec 5 c. c. de sang du cheval Caraïbe, dans le tissu conjonctif sous-cutané. Du 14 au 16 août, volumineux œdème de la gorge; apparition des parasites le 16 août; ensuite évolution abondante et sub-continue. Amaigrissement considérable.

Lésions: 50 c. c. de liquide rougeâtre dans la plèvre; sérosité dans le tissu conjonctif de la gorge et péri-trachéal: ganglions pharyngiens grossis; hypersplérie.

N° V. — Un chien, inoculé sur le rat n° 13, apporte le virus de la Mbori à Paris. Ce chien, originaire de Ségou, succombe le 65e jour.

Nos A et B. — Deux chiens français, inoculés à Paris sur le chien n° 5, meurent en 12 et 17 jours [1].

En 1906, M. le Dr Jouvenceau, attaché à l'hôpital colonial de Tombouctou, que nous remercions ici de sa grande obligeance, voulut bien, sur notre demande, inoculer à des chiens du sang de dromadaires amaigris de Tombouctou. Six chiens de cette ville furent inoculés le 1er janvier et expédiés à Ségou où ils arrivèrent le 20. L'un d'entre eux s'étant échappé quelques jours après et trois autres ayant succombé prématurément à la dysenterie contractée pendant le voyage en saison froide sur le Niger, nous ne parlerons ici que des deux cas restants.

Nos 6 et 7. — A leur arrivée au laboratoire de Ségou, on note des parasites nombreux ; leur évolution est ensuite sub-continue et abondante, avec accès fébriles allant souvent à 40° ; on remarque des kératites doubles et complètes; sur le n° 6, existe une iritis avec épanchement sanguin dans la chambre antérieure. Pas d'œdèmes : amaigrissement rapide.

Le n° 6 meurt le 69e jour, le n° 7 le 76e jour, avec une rate de 165 grammes pour un poids de 14 kilogs.

N° 8. — Un chien de 6 mois, de Ségou, est inoculé, le 9 mars 1906, sur le chien n° 6. Il succombe le 2 mai, au 55e jour, en cours de transport de Marseille à Paris, ce qui n'a pas permis l'étude de ce virus en France.

Cependant, d'après les caractères morphologiques du Trypanosome et son action pathogène sur le chien, nous le considérons comme très voisin du parasite de la Mbori de 1903.

1. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiases*, p. 195.

Le tableau ci-dessous résume ces expériences :

Nos d'ordre.	Origine.	Durée de la maladie.	Observations.
Chien nº 1.	Tombouctou....	56 jours.	Inoculés sur le dromadaire (1903).
— nº 2.	—	75 —	
— nº 6.	—	69 —	Inoculés sur le dromadaire (1906).
— nº 7.	—	76 —	
— nº 8.	Ségou.	55 —	Inoculés sur le chien nº 6.
— a.	Paris.	12 —	Inoculés sur le chien nº 5.
— b.	—	17 —	

Les résultats indiqués dans ce tableau nous montrent encore l'influence incontestable du pays d'origine sur le degré de la virulence. Si le virus passe par espèces différentes, le degré de virulence subit des modifications qu'il paraît difficile actuellement de classer.

Ainsi, un chien nº 3, de Ségou, meurt le 30e jour. Passages par antilope, cheval, chien, dromadaire;

Un chien nº 4, de Ségou, meurt le 48e jour. Passages par cheval, chien et dromadaire;

Un chien nº 5, de Ségou, meurt le 65e jour. Passages par rat nº 13, cheval, chien, dromadaire.

Conclusions.

De l'ensemble de ces expériences effectuées avec trois espèces de trypanosomes, on peut tirer les conclusions suivantes :

1º Les chiens originaires de la zone d'endémicité présentent une évolution chronique. Cette évolution revêt au contraire une forme aiguë chez les animaux de la même espèce appartenant à des régions probablement indemnes quand on inocule du virus prélevé au moment de la mort.

Ainsi *Trypanosoma dimorphon* qui existe en Gambie et en Guinée pourrait être rencontré dans toute la haute vallée du Niger, peut-être jusqu'aux portes de Tombouctou; mais il serait actuellement très rare dans la vallée saharienne de ce fleuve. D'une manière générale il existerait surtout, à l'état enzootique, dans les régions à tsétsé.

Trypanosoma Evansi (variété Mbori) et *Trypanosoma soudanense* seraient, pour les mêmes raisons, spéciaux aux régions sahélienne et saharienne.

On peut tenter d'expliquer ces faits en observant que les chiens, par l'ingestion des toxines incluses dans les débris cadavériques des animaux domestiques (dromadaire, cheval),

marchent vers l'état d'immunité dans la zone endémique, et que, dans les régions indemnes, ils conservent toute leur sensibilité pour le virus;

2° La virulence se renforce par les passages en série dans une même espèce (rat gris) et de même origine (chien), à la condition que les inoculations soient pratiquées avec du sang prélevé au moment de la mort;

3° Un animal atteint de Trypanosomiase, étant donné (cheval, chien) le degré de virulence pour une autre espèce, s'atténue avec l'évolution morbide;

4° En séries désordonnées, la virulence semble subir des variations désordonnées.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

Le Gérant : G. Masson.

21me ANNÉE DÉCEMBRE 1907. No 12

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Relations entre le venin de cobra et son antitoxine

Par A. CALMETTE et L. MASSOL

(Institut Pasteur de Lille.)

Malgré les importants travaux publiés au cours de ces dernières années sur les relations entre les toxines et leurs antitoxines, nous ignorons encore si, dans les mélanges de ces substances, il se produit une combinaison chimique aboutissant à la formation d'un corps nouveau possédant des propriétés toutes différentes de celles de ses composants, ou si les deux substances, simplement juxtaposées, gardent leurs caractères particuliers.

De toutes les matières albuminoïdes toxiques susceptibles de former des *anticorps*, les venins sont les plus propres à nous fournir des données précises pour la solution de ce problème physiologique. Outre qu'il est facile d'en obtenir des quantités relativement considérables qu'on peut conserver pendant des années à l'état sec sans que leur toxicité subisse des variations sensibles, ils offrent le précieux avantage d'être très résistants à la chaleur, et de ne pas être modifiés par certains réactifs tels que les acides faibles, l'alcool, auxquels les autres toxines sont particulièrement sensibles.

Déjà en 1895, l'un de nous [1] avait montré que, si l'on mélange *in vitro*, en proportions déterminées, du venin et du sérum antivenimeux et qu'on chauffe ce mélange à 68° pendant une demi-heure, l'injection du mélange chauffé tue les animaux comme si l'on inoculait le venin seul, quoique avec un retard notable. On devait en conclure que le sérum antitoxique ne détruit pas la toxine à laquelle il est mélangé. On était, dès

1. Calmette, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, n° 4.

lors, conduit à admettre qu'il ne se forme aucune combinaison chimique entre les deux substances et que le sérum se borne à exercer parallèlement une action opposée en empêchant les effets nocifs du venin, ou tout au moins que, s'il se forme une combinaison, elle est dissociable.

C.-J. Martin et *Cherry* [1], en répétant ces expériences, trouvèrent qu'elles étaient bien exactes lorsqu'on chauffait le mélange *venin + antitoxine* moins de 10 minutes après qu'il avait été effectué, mais que, si l'on chauffait seulement 20 ou 30 minutes plus tard, la toxicité du venin ne reparaissait plus.

Récemment *J. Morgenroth* [2] a jeté sur la question une vive lumière en indiquant que lorqu'on ajoute une petite quantité d'acide chlorhydrique au composé atoxique *venin + antitoxine*, le venin récupère la propriété d'entrer en combinaison avec la *lécithine* pour former un *lécithide* hémolysant (*P. Kyes*), tandis qu'en présence du sérum antitoxique seul, sans addition d'acide, la combinaison *lécithine + venin = lécithide*, ne peut pas s'effectuer. Dans un autre mémoire [3], J. Morgenroth a démontré que le composé atoxique *venin + antitoxine*, chauffé à 100 degrés, pendant 30 minutes, en présence d'une faible acidité chlorhydrique, pouvait restituer la moitié de sa neurotoxine.

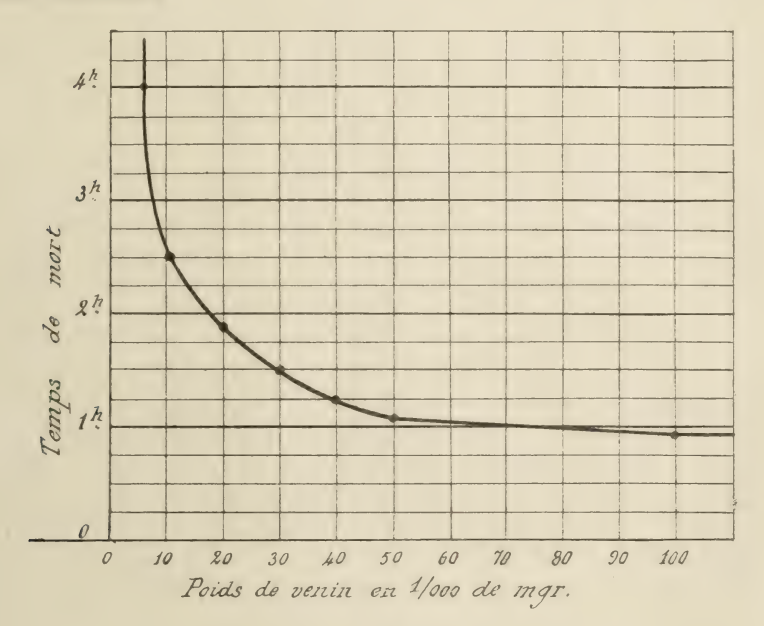
Il nous a paru nécessaire de reprendre l'étude de ces phénomènes et aussi celle des différentes propriétés du composé atoxique *sérum + venin*. Comme il est vraisemblable que les autres toxines, microbiennes, végétales ou animales, ne se comportent pas autrement que les venins à l'égard de leurs antitoxines spécifiques, on peut espérer qu'une connaissance plus approfondie des combinaisons formées par l'une d'entre elles permettra d'aborder plus facilement la recherche des lois qui président à leurs relations.

Toutes les expériences que nous relatons ci-après ont été faites avec le même échantillon de venin de cobra et avec le sérum antivenimeux provenant d'une même saignée. Le sérum a été conservé à la glacière et nous avons constaté que son pouvoir antitoxique n'a pas varié du commencement à la fin de nos essais : 0 c. c. 35 neutralisent exactement *in vitro* 0 mgr. 500 de venin.

1. *Proceedings of the Royal. soc.* 1898, vol. 63.
2. *Berlin. Klin Wochenschrift* 1905, n° 50.
3. *Sonderabdruck aus; Arbeiten aus dem Pathologischen Institut zu Berlin*, 1906.

Les solutions titrées de venin étaient préparées tous les quatre jours et tenues également à la glacière. La dose minima mortelle pour la souris blanche étant sensiblement de 0 mgr. 005, nous avons expérimenté avec des doses de 0 mgr. 500 0 mgr. 250, de telle sorte que les erreurs de nos résultats ne pouvaient pas être supérieures à 1 ou 2 0/0.

Nous donnons, ci-après, sous forme de graphique, les variations du temps de mort pour des doses variables de venin : les résultats indiqués sont, en général, les moyennes de quatre déterminations.



I

Propriétés de la combinaison atoxique sérum + venin et de ses composants.

A. *Solubilité du venin dans l'alcool.* — Si nous versons 1 c. c. d'une solution à 5 0/00 de venin, soit 5 milligrammes, dans une série de vases contenant 9 c. c. d'alcool à titre variable, de telle sorte qu'on obtienne 10 c. c. marquant respectivement 47, 63, 69, 77, 86 degrés à l'alcoomètre de Gay-Lussac, on obtient, dans tous les cas, un léger précipité. Séparons celui-ci par filtration. Le liquide alcoolique, évaporé dans le vide à la tem-

pérature de 50-55 degrés centigrades, laisse un résidu dont la toxicité est égale à celle du venin primitif. Le précipité resté sur le filtre, lavé à l'alcool, puis repris par 5 c. c. d'eau salée physiologique après dessiccation, se montre complètement inoffensif.

Laissons pendant 24 heures 10 milligrammes de venin en contact avec 45 c. c. d'alcool à 50 0/0. Evaporons l'alcool, reprenons par l'eau et complétons à 50 c. c. La toxicité de cette solution pour la souris est la même que celle d'une solution témoin.

Donc, dans les conditions qui précèdent, l'*alcool peut dissoudre le principe toxique du venin* et la solution de ce principe toxique dans l'alcool à 50 0/0 est stable.

*
* *

B. *Insolubilité de l'antitoxine dans l'alcool.* — Par contre, la substance antitoxique du sérum antivenimeux est insoluble dans l'alcool à 50 0/0. Elle passe tout entière dans le précipité et y est très rapidement détruite, comme le prouve l'expérience suivante :

On traite 4 c. c. de sérum par un volume d'alcool suffisant pour obtenir 40 c. c. titrant 50 0/0. Après 18 heures de contact on évapore l'alcool. La dissolution du précipité ne se fait plus. On le met en suspension fine dans un volume d'eau correspondant au volume initial de sérum et on en mélange les quantités suivantes avec la dose uniforme de $0^{mgr},025$ de venin.

Souris.	Dose de venin.	Sérum.	Temps de mort.
1	0 mgr. 025	0 c. c. 05	+ 2 h. 40.
2	id.	0 c. c. 06	+ 1 h. 20.
3	id.	0 c. c. 08	+ 2 h.
4	id.	0 c. c. 1	+ 1 h. 45.

Les mélanges se comportent comme s'il n'y avait pas trace d'antitoxine. Celle-ci est donc *détruite*, ou bien l'*alcool lui a fait perdre toute affinité pour le venin.*

Dans l'expérience qui va suivre, nous avons recherché le temps de contact de l'alcool à 50 0/0 avec l'antitoxine, nécessaire pour détruire le pouvoir antitoxique du sérum. Quatre vases reçoivent chacun 4 c. c. de sérum et une quantité d'alcool telle qu'on obtienne un volume de 25 c. c. à 50 0/0 de richesse

alcoolique. Aux divers temps de contact mentionnés dans le tableau ci-dessous on ajoute 1 c. c. d'une solution de venin à 5 0/00, soit 5 milligrammes. Après un séjour de 40 heures à la température du laboratoire, pour donner à la réaction le temps de s'accomplir, on évapore l'alcool dans le vide à 50-55 degrés et on reprend par l'eau de façon à obtenir

Souris.	TEMPS de contact de l'alcool avec l'antitoxine.	TEMPS de mort des souris.
1	0	Survie.
2	5′	Survie.
3	20′	+ 2 h. 15 — 12 h.
4	45′	+ 50′

10 c. c. Chaque souris reçoit ensuite 0,5 c. c., soit $0^{mgr},250$ de venin. Il suffit donc d'un temps de contact très court avec l'alcool pour affaiblir l'antitoxine, puisque la toxicité apparaît déjà pour un contact de 20 minutes du sérum avec l'alcool dilué à 50 0/0.

*
* *

C. *Action de la chaleur sur le venin et sur l'antitoxine.* — Rappelons que le venin de cobra possède, comme l'ont montré déjà les recherches antérieures de l'un de nous, une grande résistance à la chaleur[1]. Il peut être chauffé pendant quelques instants au voisinage de 100 degrés sans que sa toxicité soit sensiblement atténuée. Toutefois 2 et 5 doses mortelles, portées pendant 30 minutes au bain-marie à 100 degrés deviennent inoffensives.

Si l'on coagule une solution de venin par la chaleur (à 76-80 degrés), le coagulum après lavage ne contient pas le principe toxique : celui-ci reste en solution dans le liquide. *Les albumines du venin, coagulables par la chaleur, ne sont donc pas toxiques.*

Par contre, l'antitoxine est facilement détruite par le chauffage :

Portons pendant 10 minutes, aux températures suivantes :

1. J. Morgenroth a prouvé que cette thermostabilité des solutions de venin peut être considérablement augmentée par des traces d'acide chlorhydrique.

65, 68°, 70°, 72°, 1,8 c. c. de sérum + 2,7 c. c. d'eau salée physiologique et, après refroidissement, ajoutons 0,5 c. c. de venin à 5 0/00. Laissons 15 minutes en contact et injectons 0,5 c. c. du mélange (soit 0^{mgr},250 de venin) à des souris :

Température.	Temps de mort.
65°	Survie.
68°	+ 24 h.
70°	+ 0 h. 45
72°	+ 1 h. 43

Nous voyons qu'à partir de 68 degrés l'antitoxine est partiellement détruite. Elle l'est complètement à 70 degrés.

***

D. *Solubilité du composé atoxique sérum + venin dans l'alcool à* 50 *et* 64 0/0. — 8 c. c. de sérum + 2 c. c. de venin à 5 0/00 sont traités par l'alcool de manière à obtenir un volume de 50 c. c., titrant 50 0/0. On filtre et, après évaporation de l'alcool, on reprend séparément le précipité et le liquide par l'eau en complétant à 10 c. c. On injecte 0,5 c. c. de chaque portion (0^{mgr},500 de venin), précipité et liquide, à deux souris qui survivent. Il n'y a donc pas de venin libre. Pour mettre en évidence le composé atoxique *sérum + venin*, on se sert de la méthode décrite par *J. Morgenroth :* on porte les liquides à 100 degrés pendant 30 minutes en présence d'une légère acidité chlorhydrique (0,05 c. c. à 0,1 c. c. d'acide chlorhydrique normal par c. c. de sérum employé suffisent). On injecte à des souris 0,5 c. c. des dilutions indiquées de la partie soluble et de la partie insoluble,

SOURIS	DILUTIONS	PARTIE	
		Soluble dans l'alcool.	Insoluble dans l'alcool.
1	1/5	+ 2 h.	+ 1 h. 35
2	1/6	Survie.	+ 1 h.
3	1/12	Id.	+ 2 h.
4	1/15	Id.	+ 72 h.
5	1/30	Id.	Survie.

Le composé atoxique *sérum + venin* se trouve donc principalement dans la partie insoluble dans l'alcool à 50 0/0. Cette

expérience répétée, en variant jusqu'à 48 heures la durée de contact de la combinaison atoxique *sérum* + *venin* avec l'alcool, donne le même résultat.

Avec une concentration plus élevée en alcool (64 0/0), et après un traitement analogue, on a les résultats suivants :

SOURIS	DILUTIONS	PARTIE	
		Soluble.	Insoluble.
1	1/5	Survie.	+ 1 h. 40 — 3 h. 10
2	1/10	Id.	+ Id.
3	1/15	Id.	+ Id.
4	1/25	Id.	+ 8 h. — 21 h.
5	1/50	Id.	+ Id.

L'insolubilité du composé *sérum* + *venin* est donc presque totale dans l'alcool à 64 0/0 et beaucoup plus grande que dans l'alcool à 50 0/0; tandis qu'au contraire, le venin seul est encore soluble dans l'alcool à 86 0/0.

Dans tous les cas, on constate qu'alors que l'antitoxine seule est complètement insoluble dans l'alcool à 50 0/0 et rendue inapte à neutraliser le venin, *son mélange préalable avec le venin* lui permet de garder toute son activité antitoxique.

Nous nous sommes demandé si cette stabilité de l'antitoxine vis-à-vis de l'alcool, en présence du venin, était acquise immédiatement. 5 milligrammes de venin (1 c. c. d'une solution à 5 0/00) sont mélangés avec 15 c. c. d'alcool à 50 0/0 + 5 c. c. à 95 0/0. On verse ensuite ce liquide sur 4 c. c. de sérum et on filtre aussitôt. En évaporant l'alcool à 50-55 degrés dans le vide et reprenant par l'eau, on constate que les deux parties, liquide et précipité, sont atoxiques pour les souris qui reçoivent un volume de liquide correspondant à $0^{mgr},500$ de venin. Le phénomène est exactement le même si on précipite le sérum par l'alcool et si on ajoute aussitôt le venin. La vitesse de réaction est donc grande : la toxine et l'antitoxine se partagent entre le précipité et le liquide de manière à se trouver, de part et d'autre, dans le même rapport caracté-

risé par l'atoxicité vis-à-vis de la souris ; ce n'est donc pas un simple phénomène d'entraînement. On peut, de plus, s'assurer de la présence du composé atoxique *sérum + venin* dans les deux parties (soluble et insoluble) en mettant le venin en évidence par la méthode habituelle.

L'antitoxine devient donc stable en présence d'*alcool éthylique,* dès l'instant où elle rencontre du venin.

D'autres essais nous ont prouvé qu'il en est de même avec l'*alcool méthylique*, l'*alcool propylique*, l'*éther acétique*, l'*acétone*. Les *sulfates d'ammoniaque et de magnésie* précipitent aussi la combinaison *sérum + venin* sans la dissocier.

*
* *

E. *Action de la chaleur sur le composé atoxique sérum + venin.*

1° *Influence de différentes températures pendant* 10 *minutes*. — Quatre vases reçoivent chacun 1,8 c. c. de sérum + 2,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 2,7 c. c. d'eau salée physiologique. Après 2 heures de contact on porte respectivement chaque vase pendant 10 minutes aux températures de 70, 72, 75 et 80 degrés. On injecte 0,5 c. c. (soit $0^{mgr},250$ de venin) à des souris.

Voici les résultats obtenus :

Souris.	Températures de chauffage.	Temps de mort.
1	70°	Survie.
2	72°	Survie.
3	75°	+ 24 h.
4	80°	+ 1 h. 30.

En présence du venin, l'antitoxine acquiert donc une résistance marquée au chauffage, puisque la température qui la détruit dans ce cas est supérieure de 7 degrés à celle qui la détruit lorsqu'elle est seule. Mais à partir de 75 degrés *la dissociation a lieu;* l'antitoxine est alors détruite et le mélange devient toxique.

D'autres expériences avec divers échantillons de sérum antivenimeux nous ont montré que cette dissociation des composés atoxiques *sérum + venin* se produit tantôt à des températures légèrement plus basses, tantôt au contraire à des températures plus élevées ; que pour deux sérums différents, toutes autres conditions égales d'ailleurs, le poids de venin libéré était différent. Les variations sont du reste minimes. Pour le sérum

employé dans ce travail, le temps de contact avant chauffage ne joue aucun rôle.

2° *Influence du temps de chauffage à 72 degrés.* — 8 c. c. de sérum + 2 c. c. de venin à 5 0/00 sont laissés en contact pendant 2 heures. On ajoute 15 c. c. d'eau salée physiologique pour empêcher la prise en masse sous l'action de la chaleur. Après les temps de chauffage de 10, 20, 30, 40, 60 minutes et 3 heures, on injecte 0,5 c. c. (0^{mgr},200 de venin) aux souris qui résistent toutes. La stabilité du composé atoxique est donc très nette à 72 degrés; il n'y a pas 2,5 0/0 de dissociation car les souris devraient accuser une dose mortelle (0^{mgr},005 de venin).

3° *Influence de la concentration en sérum + venin pour un chauffage de* 10 *minutes à* 80 *degrés.* — 10 c. c. de sérum + 2,5 c. c. de venin à 5 0/00 sont laissés en contact pendant 20 minutes (ce qui est sans importance pour ce sérum). On porte 10 minutes à 80 degrés, sous 5 c. c. de volume, les quantités de *sérum + venin* correspondant aux poids de venin du tableau et on injecte à des souris 0,5 c. c., soit le dixième des poids de venin indiqués. D'après l'expérience, la dissociation n'est donc appréciable que pour une certaine concentration en *sérum + venin;* elle augmente légèrement avec cette dernière sans toutefois lui être proportionnelle. Ainsi les souris numéros 5, 6, 7, 8, pour lesquelles la concentration varie dans le rapport de 1 à 4 accusent, d'après leurs temps de mort, un poids de venin compris entre 0^{mgr},0065 et 0^{mgr},0085. La chaleur seule ne fait donc apparaître qu'une faible proportion de venin et, lorsque la concentration du liquide en venin atteint une certaine valeur, la *décomposition s'arrête.*

SOURIS	S + V — Venin sous 5 c. c.	TEMPS DE MORT
1	0 mg	Survie.
2	0 mgr. 100	Id.
3	0 mgr. 150	Id.
4	0 mgr. 200	Id.
5	0 mgr. 500	+ 3 h. 25
6	1 mgr,	+ 3 h. 45
7	1 mgr. 5	+ 3 h.
8	2 mgr.	+ 2 h. 55
9	2 mgr. 5	+ 2 h.
10 Témoin non chauffé.	5 mgr.	Survie.

Dans la suite nous constaterons en effet qu'une partie du venin reste lié à l'antitoxine.



4° *Coagulation du composé atoxique sérum + venin par la chaleur.* — Chauffons pendant 10 minutes à 80 degrés le mélange atoxique 8 c. c. de sérum + 2 c. c. de venin à 5 0/00 + 10 c. c. d'eau salée physiologique pour empêcher la coagulation avec prise en masse. Ajoutons ensuite 20 c. c. d'eau salée physiologique pour permettre la dissolution du venin libéré et laissons en contact pendant 3 heures en agitant fréquemment. On centrifuge et on lave quatre fois le précipité. Après avoir complété les deux parties (soluble et insoluble) à 60 c. c., on injecte une série de souris avec 0,5 c. c. des dilutions indiquées de ces liquides et une autre série avec 0,5 c. c. des mêmes liquides traités à chaud en présence d'une légère acidité chlorhydrique (méthode précédemment décrite). On obtient les résultats suivants :

		DILUTIONS	TEMPS DE MORT sans HCl.	TEMPS DE MORT avec HCl.
Liquide....	1	1/1	Très malade. Survie.	+ 2 h.
	2	1/2	Id. Survie.	Survie.
	3	1/3	Survie.	Id.
	4	1/4	Id.	Id.
Précipité ..	1	1/1	Survie.	+ 1 h. 30 — 12 h.
	2	1/2	Id.	+ Id.
	3	1/3	Id.	+ Id.
	4	1/4	Id.	+ Id.

Un chauffage pendant 10 minutes à 80 degrés est donc incapable de scinder totalement la combinaison, puisqu'un nouveau traitement à chaud, en présence d'acide chlorhydrique, permet d'obtenir une toxicité beaucoup plus grande. En outre, le précipité primitif, qui était complètement atoxique, devient toxique après le traitement à l'acide. La combinaison *sérum + venin* a donc été insolubilisée en majeure partie sans être décomposée. Par suite, le venin *qui, alors qu'il est seul, n'est pas insolubilisé par la chaleur, devient coagulable dès qu'il se trouve en présence d'antitoxine*, et une partie de cette dernière résiste, grâce au venin, à un chauffage de 10 minutes à 80 degrés.

II

RÉGÉNÉRATION DU VENIN ET DE L'ANTITOXINE

J. Morgenroth a démontré que, dans un composé atoxique *sérum + venin*, on peut, en chauffant à 100 degrés en présence d'une faible acidité chlorhydrique, mettre le venin en évidence. Par cette méthode il n'est pas prouvé que l'acide scinde la combinaison : il donne surtout de la thermostabilité au venin. En effet, d'après nos essais, il suffit d'un simple chauffage de 10 minutes à une température comprise entre 75 et 80 degrés pour faire apparaître le venin et, en outre, si nous chauffons du venin seul ou le composé atoxique *sérum + venin* à 100 degrés pendant 30 minutes, les souris n'accusent plus de toxicité

pour 2 et 5 doses mortelles comme le démontrent les expériences suivantes :

Expérience I.

SOURIS	POIDS DE VENIN	TEMPS DE MORT		
		Venin non chauffé	Venin chauffé.	Sérum + Venin chauffé.
1	0 mgr. 025	+ 1 h. 48	Survie.	Survie.
2	0 mgr. 010	+ 2 h 30	id	id

Le venin est donc détruit. Par le même temps de chauffage en présence d'acide chlorhydrique (0,05 c. c. à 0,1 c. c. de la solution normale par c. c.) on obtient les résultats ci-dessous :

Expérience II.

SOURIS	POIDS DE VENIN	TEMPS DE MORT	
		Venin.	Sérum + Venin.
1	0 mgr. 025	+ 2 h. 45	+ 3 h. 30
2	0 mgr. 010	+ + 2 h. 45	Survie.

L'acide rend seulement le venin thermostabile. Toutefois par cette méthode, *J. Morgenroth* n'obtient guère que la moitié du venin présent, bien qu'une solution du venin témoin chauffée avec la même quantité d'acide, conserve sensiblement toute sa toxicité.

Au contraire, dans la méthode que nous allons décrire, l'action de l'acide chlorhydrique sur la combinaison va ressortir très nettement. Chauffons 30 minutes à 72 degrés 4 c. c. de sérum + 1 c. c. d'une solution de venin à 5 0/00 + 0,6 c. c. d'acide chlorhydrique normal ; après refroidissement, complétons à 100 c. c., et injectons à des souris 0,5 c. c. des dilutions indiquées ci-après :

Expérience III

SOURIS	DILUTIONS	VENIN sous 0,5 c c.	TEMPS DE MORT
1	1/1	0 mgr. 025	+ 1 h. 26
2	2/5	0 mgr. 010	+ 2 h. 2

Les deux animaux d'expérience meurent en 1 h. 26 et 2 h. 2, temps comparables à ceux des souris témoins dans l'expérience I venin non chauffé); la *restitution du venin serait donc totale*. On peut aussi constater qu'on récupère plus de venin qu'à 100 degrés, puisque la souris n° 2 (expérience III) est morte alors que la souris n° 2 (S + V exp. II) a survécu. En outre, on sait que le même composé atoxique *sérum + venin* peut être porté à 72 degrés pendant 3 heures sans se dissocier; l'acide chlorhydrique rendrait donc sa thermolabilité à l'antitoxine et cela sans doute en faisant cesser sa liaison avec le venin.

Enfin la restitution incomplète du venin par la méthode de *Morgenroth* n'est pas due à l'action de l'antitoxine sur le venin. Chauffons en effet pendant 30 minutes à 100 degrés les mélanges suivants :

1° 2,5 c. c. de sérum + 0,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 0,3 c. c. d'acide chlorhydrique normal ;

2° Les cendres de 2,5 c. c. de sérum + 0,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 0,3 c. c. d'acide chlorhydrique + 2,5 c. c. d'eau physiologique ;

3° 0,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 0,3 c. c. d'acide chlorhydrique + 2,5 c. c. d'eau physiologique.

Après refroidissement, complétons chaque essai à 50 c. c. et injectons à des souris 0, c. c. 5 des dilutions indiquées.

Expérience IV

DILUTIONS	TEL	4/10
Venin.	0 mgr. 025	0 mgr. 010
1	+ 3 h. 45	Survie.
2	+ 4 h. 15	Id.
3	+ 2 h. — 3 h. 15	+ 3 h. 15

La restitution incomplète du venin ne dépend donc pas de l'antitoxine (on a pu le constater aussi en ajoutant le venin au sérum chauffé à 100 degrés), la toxicité de celui-là reste la même, mais de l'action des substances minérales du sérum en présence de l'acide chlorhydrique et de l'influence nocive de ce dernier à 100 degrés sur le venin, comme il ressort de la comparaison des temps de mort des souris n°s 1 et 2 (exp. I venin non chauffé) avec ceux des deux souris n° 3 de l'expérience IV.

***

A. *Influence de divers acides.* — Il nous a paru intéressant d'étudier, outre l'influence de l'acide chlorhydrique libre, déjà signalée par *J. Morgenroth*, celle d'autres acides minéraux et organiques sur le composé atoxique *sérum + venin*. Voici, brièvement résumés, les résultats de nos essais :

Le sérum et le venin sont laissés en contact pendant 1 heure. On introduit 2 c. c. du composé atoxique (soit 2 mgr. de venin) dans une série de tubes à essais et, après addition de chaque acide, on complète à 10 c. c. On porte 10 minutes à + 72 degrés et on injecte 0,5 c. c. (soit $0^{mgr},100$ de venin initial) à des souris.

A exprime la dose d'acide ajouté correspondant à $5^{mgr},43$ d'acide chlorhydrique.

B exprime la dose d'acide correspondant à $10^{mgr},86$ d'acide chlorhydrique.

NATURE DES ACIDES	A	B
1. Acide sulfurique.......	+ 44′	»
2. — chlorhydrique...	+ 38′	»
3. — formique........	Survie.	+ 1 h. 20
4. — oxalique.........	Survie.	+ 3 h. 15
5. — acétique.........	+ 3 h. 15	Très malade.
6. — butyrique.......	Survie.	Survie.
7. — succinique......	»	Survie.
8. — tartrique........	»	+ 1 h. 30
9. — citrique.........	»	+ 1 h. 34
10. — malique.........	»	+ 1 h. 50
11. — lactique.........	»	+ 1 h.
12. — borique.........	»	Survie.
13. Témoin (sans acide)....	»	Survie.

Des témoins faits avec les mêmes mélanges, sans le venin, ont tous survécu.

En résumé, tous les acides expérimentés, sauf les acides *borique, succinique et butyrique*, sont capables de faire réapparaître

le venin par un chauffage de 10 minutes à 72 degrés. On peut donc dire *qu'en milieu acide*, la combinaison *sérum* + *venin* acquiert une plus grande *thermolabilité*.

D'autres expériences dont nous ne croyons pas utile de rapporter ici les détails, nous ont montré :

1° Que l'acide chlohrydrique aux doses employées (0,1 c. c. de la solution normale par cent. cube de sérum) ne diminue pas l'antitoxité du sérum), même après un contact de 24 h. à la température du laboratoire ;

2° Qu'un poids déterminé d'acide ne libère qu'une quantité fixe de venin, quelle que soit la concentration du mélange ;

3° Enfin que la toxicité du mélange chauffé à 72 degrés augmente avec le poids d'acide ajouté, de telle sorte *qu'on peut récupérer la presque totalité du venin initial*.

*
* *

B. Influence de l'alcool en milieu acide. — Nous avons vu précédemment que l'alcool à 50 0/0 (il en est de même pour l'alcool à 90-95 0/0) ne détruit pas la combinaison *sérum* + *venin*. Par contre, si l'on ajoute 0,1 c. c. d'acide chlorydrique normal par cent. cube de sérum, on constate *que le venin libéré passe immédiatement en solution dans l'alcool* et que, après un certain temps de contact avec l'alcool, l'antitoxine précipitée devient inactive. D'ailleurs tous les acides étudiés à propos de l'action de la chaleur peuvent aussi mettre le venin en liberté dès que le milieu est acide.

Nous avons pu constater, en outre, que la toxicité des mélanges, c'est-à-dire le venin libéré, augmente avec le poids d'acide.

Nous nous sommes alors demandé si l'alcool, grâce à sa propriété de dissoudre le venin et de précipiter l'antitoxine, ne nous permettrait pas, en opérant en milieu *acide*, de dissocier tout d'abord la combinaison *sérum* + *venin* et de la reconstituer ensuite.

Nos essais dans ce sens ont été rendus très difficiles par ce fait que, lorsqu'on précipite la combinaison atoxique *sérum* + *venin* par l'alcool en présence d'acide chlorhydrique, dès que le milieu devient acide on n'obtient qu'un précipité mucilagineux. Il faut centrifuger celui-ci rapidement, 15 à 30 minutes au plus (puisque l'antitoxine commence déjà à être partiellement détruite

par un contact de 20 minutes avec l'alcool à 50 0/0), avec une quantité d'alcool telle que le titre soit de 70 à 75 0/0, pour le séparer. On reprend ensuite le coagulum par un grand volume d'eau, on le neutralise partiellement en laissant une légère acidité libre pour éviter la formation de grumeaux, et on évapore dans le vide à la température de 50 à 55 degrés. On s'assure, d'autre part, que le liquide alcoolique ne précipite plus par l'alcool en excès; on neutralise partiellemment et on évapore de même après avoir dilué par un assez grand volume d'eau.

Voici l'une de nos expériences :

A 10 c. c. de *sérum + venin*, correspondant à 10 milligrammes de venin, nous ajoutons 1, 5 c. c. de la solution normale d'acide chlorhydrique et une quantité d'alcool telle que le volume total, porté à 100 c. c., titre 72 0/0.

On centrifuge et on lave une seule fois le précipité à l'alcool à 50 0/0.

Durée du contact avec l'alcool : 15 minutes. On reprend séparément le précipité et le liquide par 400 c. c. d'eau; on neutralise partiellement, en évapore et on ramène à 25 c. c. chacune des deux parties. On injecte à des souris :

1° 0, 5 c. c. du liquide = 0 mgr, 200 de venin; mort en 1 heure;

2° 0, 5 c. c. du liquide + 0, 5 c. c. du précipité = 0 mgr, 200 de venin; mort en 48 heures;

3° 0 c. c. 5 du liquide + 0, 5 c. c. du précipité bouilli à 100 degrés = 0 mgr. 200 de venin; mort en 1 heure.

La reconstitution du composé atoxique *sérum + venin* est donc ici presque complète et l'antitoxine régénérée garde sa thermolabilité initiale.

D'autres essais semblables nous ont fourni les mêmes résultats.

Nous pouvons donc affirmer *qu'il est possible de dissocier la combinaison sérum + venin et de la reconstituer, au moins partiellement*.

CONCLUSIONS.

Les faits que nous avons établis nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° La combinaison *sérum + venin* atoxique a des propriétés nettement différenciées de celles de ses composants;

2° La substance toxique du venin de cobra est soluble dans les liquides titrant de 50 à 80 0/0 d'alcool. Au contraire, *en présence d'antitoxine*, le venin commence à devenir insoluble dans l'alcool à 50 0/0, l'insolubilité étant presque totale pour un titre de 64 0/0.

L'antitoxine seule est insoluble dans l'alcool et, après un faible temps de contact, elle est détruite par ce réactif ;

3° *L'antitoxine, en présence du venin*, cesse d'être détruite par l'alcool éthylique même à 80 0/0, et reste active en présence de ce réactif. Il en est de même avec d'autres précipitants tels que l'alcool méthylique, l'alcool propylique, l'éther acétique, l'acétone.

Les sulfates d'ammoniaque et de magnésie précipitent aussi la combinaison *sérum + venin* sans la dissocier ;

4° La substance toxique du venin de cobra n'est pas coagulée par le chauffage à 76-80 degrés ;

5° L'antitoxine est détruite par le chauffage à + 68 degrés. Mélangée au venin, elle devient thermostabile jusqu'à 75 degrés. A cette température, du moins pour le sérum que nous avons étudié, le composé atoxique *sérum + venin* est dissocié partiellement, et le venin correspondant, libéré, passe en solution. Celui qui reste combiné est insolubilisé. Il en est de même à 80 degrés ;

6° En présence de la plupart des acides minéraux ou organiques libres et sous l'influence de la chaleur à + 72 degrés, l'antitoxine des composés atoxiques *sérum + venin* redevient thermolabile et le venin est libéré. Celui-ci n'est pas détruit par l'antitoxine et on peut le récupérer presque complètement ;

7° En présence de l'alcool éthylique à 50 0/0 et des acides minéraux ou organiques libres, le composé atoxique *sérum + venin* peut être dissocié à la température du laboratoire : l'antitoxine, après 10 à 15 minutes, est assez peu modifiée pour qu'il soit possible de reconstituer, au moins partiellement, le composé atoxique primitif ; le venin n'est pas détruit par l'antitoxine et on peut le récupérer presque quantitativement.

Donc le composé atoxique *sérum + venin* possède des propriétés nettement différentes de celles de ses composants : il faut alors admettre l'hypothèse d'une *combinaison dissociable entre la toxine et l'antitoxine.*

TRAITEMENT DES INFECTIONS EXPÉRIMENTALES A TRYPANOSOMA GAMBIENSE

Résultats tardifs.

PAR F. MESNIL ET M. NICOLLE

En donnant, il y a bientôt un an [1], les résultats de nos recherches sur le traitement des infections expérimentales à *Trypanosoma gambiense*, nous exprimions des réserves quant au caractère définitif des guérisons obtenues ; ces réserves étaient surtout indiquées pour les rats, chez lesquels nous avions observé des rechutes, même après 6 mois de guérison apparente. L'incertitude de nos résultats nous obligeait à suivre encore les animaux, naturellement sans aucune nouvelle intervention thérapeutique. C'est ce que nous avons fait ; pendant plusieurs mois, nous avons continué des examens bihebdomadaires du sang, puis nous les avons espacés.

Nous pouvons donc aujourd'hui apporter des documents qui s'étendent sur une période de 1 à 2 ans et qui, de ce chef, possèdent, croyons-nous, une valeur particulière.

Nous passerons rapidement sur ce qui concerne les rats, pour insister sur les résultats obtenus chez les singes.

RATS. — Au 1er janvier 1907, il nous restait 5 rats ; tous ont succombé dans le courant de l'année *sans avoir présenté la moindre rechute* : le 1er a été sacrifié (très malade) le 9 mars, un autre est mort le 28 juin, les 3 derniers en août ou septembre.

Pour le rat sacrifié le 9 mars, le sang a été injecté à un rat ; l'émulsion, en eau physiologique, du cerveau, de la rate, de quelques ganglions et de la moelle d'un fémur, à un autre rat. 4 mois après, les 2 animaux étaient encore indemnes.

Des 5 rats, 4 ont été traités uniquement par des injections de la couleur de benzidine « Ph » (« *afridol violet* » de la Maison Bayer). Le sujet sacrifié le 9 mars en avait reçu 7 ; au moment de la mort, il s'était écoulé 6 mois depuis la dernière apparition des Trypan. et la dernière intervention thérapeutique. — 2 des autres rats avaient reçu 2-3 injections de Ph ; il n'ont rien montré pendant plus d'une année. — Le 4e avait eu une rechute après un triple traitement par Ph ; nous en avons eu raison définitivement avec une double intervention, puisqu'un an après la rechute, quand le rat a succombé, les Trypan. n'avaient pas reparu.

1. MESNIL, NICOLLE et AUBERT, ces *Annales*, 25 janvier 1907, p. 1. Dans ce mémoire, nos expériences étaient arrêtées à la date du 31 décembre 1906.

Notre 5e rat, qui n'avait reçu que 2 injections d'atoxyl[1], a succombé plus d'un an après la dernière apparition des Trypanosomes.

La guérison de tous ces rats ne fait, pour nous, aucun doute. Rappelons que les témoins des mêmes séries ont succombé à la Trypanosomiase en 40 à 134 jours (moyenne : 74).

Singes. — Les résultats sont encore plus frappants avec les singes.

Il nous restait, au 1er janvier 1907, 11 singes vivants : 8 appartenaient aux séries I-III de mars, avril et mai 1906, 3 à la série IV (d'octobre 1906). Ces 11 singes peuvent, d'après le traitement reçu, être divisés en 3 catégories :

A. *Singes qui n'ont reçu que de l'atoxyl.*

Macacus cynomolgus 54 (série I) : atoxyl à 7 reprises (on attend les rechutes). N'a plus rien montré du 13 juillet 1906 au 12 novembre 1907 (date de sa mort), c'est-à-dire en 16 mois. A présenté, en juin 1907, du prolapsus rectal ; s'est cachectisé depuis et a succombé sans que rien pût faire suspecter une trypanosomiase.

Macacus sinicus 41 (série II) : atoxyl à 5 reprises, les 3 dernières fois sans attendre les rechutes. N'a plus jamais montré de Trypan. depuis le 20 mai 1906 jusqu'au 29 novembre 1907 (date de la mort), c'est-à-dire pendant plus de 18 mois.

Macacus sinicus 36 (série III) : atoxyl à 4 reprises, les 2 dernières fois sans attendre les rechutes. N'a plus montré de Trypan. depuis le 20 juin 1906 (= 17 mois). *Vit encore*, en excellent état (le poids est passé de 3.280 grammes à 4.330). De 2 rats, inoculés, le 24 octobre 1906, chacun avec 4 c. c. de son sang, l'un est mort le 5-6 janvier 1907, sans avoir présenté de Trypan. ; l'autre n'avait encore rien offert le 1er mars ; il a été inoculé de Trypan. à cette date et s'est montré très sensible.

Macacus cynomolgus 51 (série III) : atoxyl à 4 reprises, les 2 dernières fois sans attendre les rechutes. N'a plus offert de Trypan. depuis le 4 juin 1906 (= 18 mois). *Vit encore*.

Macacus rhesus 16 (série IV) : atoxyl à 3 reprises, sans attendre les rechutes. N'a plus montré de Trypan. depuis le 29 octobre 1906 (= 13 mois). *Vit encore*, en excellent état (le poids est passé de 3.500 grammes à 4.750).

A cette liste, il convient d'ajouter le singe 13 de notre série II (v. le tableau, page 17) qui, traité le 20 avril 1906, par une injection unique d'atoxyl, n'a jamais présenté depuis de Trypanosomes jusqu'au 19 octobre 1906, date à laquelle il est sacrifié. Tout son sang (60 c. c.) et l'émulsion : de la rate, des ganglions de l'aîne, d'un ganglion de la région pancréatique et de la

1. Nos solutions d'atoxyl, à 1 ou 2 0/0, ont toujours été stérilisées par le chauffage de quelques minutes à 100°.
2 Pour les détails, voir les tableaux de notre mémoire (*l. c.*, p. 16-19).

moitié de l'encéphale, sont inoculés dans le péritoine d'un chien qui, suivi avec soin pendant 4 mois 1/2, n'a rien montré d'anormal.

Parmi ces singes, le 36 et le 16 ont été traités assez tardivement, alors que l'infection était parvenue à la moitié environ de sa durée normale.

Nous croyons pouvoir affirmer aujourd'hui que ces 6 singes ont été guéris de leur infection à *Trypan. gambiense*.

B. *Singes que nous avions cherché à guérir par la couleur Ph, employée seule.*

Il ne nous restait, au 1er janvier 1907, que 2 singes : le *Macacus cynomolgus* 61 (sér. II) et le *M. rhesus* 14 (sér. III), le 1er mis en traitement le 20 avril 1906, l'autre le 23 mai. Malgré les injections répétées et relativement massives (très bien supportées d'ailleurs) de Ph, les Trypan. n'arrivaient pas à disparaître définitivement. Le 1er sujet a reçu alors, les 29 octobre et 21 novembre, de l'atoxyl et, dans l'intervalle, encore une fois du Ph. Le 2e a eu une injection unique d'atoxyl le 26 octobre, suivie, dans le courant du mois, de 2 injections de Ph. Depuis la 1re injection d'atoxyl (29-26 octobre 1906), les 2 singes n'ont plus montré de Trypan. L'autoagglutination des hématies, que nous avons vue diminuer assez vite, a mis cependant plusieurs mois avant de disparaître complètement.

Le singe 61 *vit encore*. Le 14 a été enlevé brusquement, par une pleuropneumonie, le 14 novembre 1907.

La guérison de ces singes, chez lesquels les Trypan. avaient disparu depuis plus d'un an, ne fait, croyons-nous, aucun doute.

C. *Singes traités par l'alternance Ph-Atoxyl.*

Macacus rhesus 12 (sér. I) : 1re injection, couleur « Cl » (= *afridol bleu*); puis, alternance Ph-atoxyl (en tout, 2 injections de Ph et 2 d'atoxyl; on attend chaque fois la rechute.) N'a plus montré de Trypan. depuis le 30 mai 1906 (= 19 mois). *Vit encore.*

Macacus sinicus 37 (sér. II) : d'abord, 3 injections de Ph; puis, atoxyl, Ph, atoxyl, sans attendre les rechutes. N'a plus montré de Trypan. du 5 juin 1906 jusqu'au moment de la mort (26 juin 1907), laquelle n'a pu être attribuée à la Trypanosomiase.

Macacus rhesus 22 (sér. IV) : 2 injections d'atoxyl séparées par 1 de Ph (sans attendre les rechutes). N'a rien montré depuis le 29 octobre 1906 (= 13 mois). *Vit encore.* L'autoagglutination des hématies avait complètement cessé au bout de 2 mois.

Macacus cynomolgus 95 (sér. IV) : 3 injections de Ph, alternant avec 3 d'atoxyl. Succombe, le 2 janvier 1907, de pyémie d'origine tégumentaire; le sang du cœur donne, en culture, des microbes pyogènes et du colibacille. Bien que le sang, prélevé au moment de la mort, n'ait pas infecté un rat, nous ne voulons pas conclure à la guérison du porteur parce qu'il avait reçu, quelques jours auparavant, une injection d'atoxyl. Mais nous pouvons

affirmer que l'animal n'a pas succombé à la Trypanosomiase. Son observation, ainsi que celle de quelques autres singes portés sur les listes de notre précédent mémoire, et qui avaient aussi succombé au cours du traitement par l'atoxyl ou l'afridol violet, ne saurait donc être invoquée ni pour ni contre la méthode.

Aux 3 singes 12, 37 et 22, que nous considérons comme ayant été guéris de leur infection à *T. gambiense*, il faut ajouter le *Macacus cynomolgus* 67 de notre série III.

Traité (intervention relativement tardive) par 2 injections d'atoxyl, alternant avec 2 de la couleur violette, ce singe n'a rien montré du 5 juin 1906 au 11 novembre suivant, date à laquelle il a succombé à une congestion pulmonaire. Des rats, inoculés le 24 octobre, chacun avec 3 c. c. de son sang, ont été suivis 2 mois et demi et 3 mois et demi sans offrir de Tryp. dans leur sang.

En somme, cette nouvelle attente de 11 mois, que nous nous sommes imposée, nous permet de lever les doutes que nous émettions prudemment au sujet du résultat final de nos traitements. Aujourd'hui, nous croyons pouvoir parler hardiment de guérisons définitives et affirmer que *douze singes macaques*, soumis à une infection sévère par le *T. gambiense* (rappelons que les témoins de nos diverses séries ont succombé en 20 à 51 jours : moyenne 32), *ont été guéris :*

1° 6 par l'atoxyl seul;

2° 4 par l'alternance atoxyl-Ph;

3° 2 par Ph, d'abord employé seul, puis associé (pour finir le traitement) soit à une injection unique, soit à 2 injections d'atoxyl.

Tous ces singes guéris ne paraissent avoir gardé aucune lésion particulière du fait de l'infection ou de la médication. Ils se sont comportés, depuis la disparition de leurs parasites, exactement comme leurs compagnons de captivité; les plus robustes ont fortement augmenté de poids et leur mortalité est demeurée relativement faible [1].

Quant à ce qui concerne les indications que l'on serait tenté de tirer de nos expériences au point de vue de la thérapeutique humaine, elles demeurent toujours telles que nous les avons formulées dans notre précédent mémoire.

Paris, 2 décembre 1907.

1. Ainsi, dans le mois de novembre 1907, durant lequel nous avons perdu 3 sujets, une mortalité exceptionnelle a sévi sur tous les singes de l'Institut Pasteur, même sur les non-inoculés.

Comment peut-on combattre l'anaphylaxie? [1]

PAR LE Dr BESREDKA

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.

Dans leur premier mémoire [2], Rosenau et Anderson disent avoir cherché longuement, et inutilement d'ailleurs, à dépouiller le sérum de ses propriétés toxiques. Dans le second mémoire [3], ils ont eu beau multiplier les expériences, le sérum n'est pas moins resté aussi toxique après le traitement qu'avant.

Tant d'efforts montrent que ces savants n'ont pas méconnu l'importance du problème. Et en effet, n'est-on pas en droit d'espérer que le jour où l'on aura réussi à rendre le sérum inoffensif pour le cobaye sensibilisé, on n'aura plus à redouter les accidents anaphylactiques aussi chez l'homme?

Dans l'espoir de détruire le principe toxique du sérum, les auteurs américains firent intervenir un grand nombre d'agents chimiques et physiques. Ils ont essayé tour à tour l'acide butyrique, le permanganate de potasse, le citrate de soude, l'alcool, le peroxyde de l'acide succinique, l'eau oxygénée, le sulfate d'ammoniaque, le chloroforme, le tricrésol, les rayons X, la filtration sur porcelaine.

Rien n'y a fait.

Plus récemment, dans le même ordre d'idées, ils ont fait agir sur le sérum différents ferments, alcaloïdes et sels : la taka-diastase, la pancréatine, la myrosine, l'invertine, l'émulsine, la pepsine en solution acide ou alcaline et encore d'autres ferments, mais sans succès.

Ils n'ont pas été plus heureux avec l'atropine, la strychnine, la morphine, la caféine, le chlorure de calcium, le sulfate de magnésium, la bile de bœuf, l'aldéhyde formique, etc. ; il en fut de même de la congélation de sérum, suivie de dégel.

De vieux sérums datant de huit ans ne se montrèrent guère moins toxiques que des sérums frais. Le chauffage à 60° pendant six heures consécutives demeura, d'après Rosenau et

1. Voir la note préliminaire dans les *Compt. rend. Soc. Biol.* 8 juin 1907.
2. A study of the cause of suddent death, etc., 1906.
3. Studies upon hypersusceptibility and immunity, 1907.

Anderson, sans effet sur la toxicité, et il ne fallait pas moins de 100° (15) pour faire disparaître le principe toxique de sérum.

Voilà ce qui a été fait jusqu'à présent. Voici maintenant ce que nous avons essayé de faire.

***

Nous avons cherché à notre tour à empêcher les troubles anaphylactiques et cela de deux façons : soit en visant le sérum directement, en lui enlevant sa substance dite toxique, soit en agissant sur l'animal sensibilisé, en le rendant réfractaire à cette substance.

Disons de suite que toutes nos tentatives pour toucher le sérum dans sa toxicité, au moyen de produits chimiques, ont complètement échoué. Ni le liquide de Gram, ni la précipitation par l'eau distillée, ni l'extraction par l'éther, ni le contact prolongé (deux jours) avec du charbon animal, n'ont empêché le sérum de se montrer meurtrier pour le cobaye sensibilisé.

Nous nous adressâmes alors à des agents physiques et biologiques.

Nos expériences antérieures sur la toxicité des sérums[1] ont montré combien cette propriété pouvait varier suivant les sérums ; nous avons vu, en effet, qu'à côté de sérums hypertoxiques, on pouvait en rencontrer qui étaient de toxicité minime. Ainsi, pour ne citer que nos sérums français, l'éclosion des troubles anaphylactiques ne s'opère que lorsqu'on en injecte des doses comparativement élevées (1/10-1/8 c. c).

Or, en cherchant la cause de cette toxicité si faible, nous sommes arrivés à conclure que le principe toxique des sérums ne doit pas être indifférent à la température. Nous y étions amené d'autant plus que, par les expériences faites précédemment[2], nous avons acquis la conviction que nos sérums français, employés tels que, à des intervalles assez rapprochés de la saignée, ne cédaient en rien, au point de vue de la toxicité, aux sérums des autres pays.

Force nous est donc d'admettre que le peu de toxicité de nos sérums est liée au chauffage à 55°-56° qu'ils subissent avant d'être livrés à la circulation.

Pour mettre la question au clair, nous résolûmes d'étudier,

1. Ces *Annales*, octobre 1907.
2. *Loc. cit.*

d'une façon suivie, la toxicité des sérums à différentes températures, à commencer par celle de 100 degrés.

* * *

La disparition de la propriété toxique du sérum à la température d'ébullition a déjà été indiquée par Rosenau et Anderson; ces auteurs se sont bornés à signaler simplement le fait sans préciser s'ils avaient opéré sur du sérum coagulé ou non; c'est cependant un détail qui a son importance.

Nous avons eu toujours affaire à des sérums non coagulés quelle que fût latempérature à laquelle on les portait.

Pour empêcher la coagulation, nous ajoutons à 1 partie de sérum 3 parties d'eau distillée (4 c. c. de sérum + 12 c. c. d'eau distillée). Dès que le mélange est fait, on voit se produire un précipité, plus ou moins abondant suivant l'échantillon; ce précipité ne trouble en rien le phénomène et ne reparaît d'ailleurs pas après le chauffage.

Le sérum ainsi dilué est porté pendant 20 minutes à 100 degrés. Le liquide devenu opalescent est mis sous cloche dans le vide et ramené à son volume primitif (4 c. c.)[1]. L'opalescence du sérum ainsi réduit s'accentue, mais sa consistance reste parfaitement liquide.

Injecté dans le cerveau des cobayes sensibilisés, à la dose maxima de 1/4 c. c., ce sérum chauffé à 100° se montre à peu près inoffensif: les animaux éprouvent un certain malaise, il est vrai, à la suite de l'injection, mais ils ne présentent jamais le moindre symptôme d'anaphylaxie.

Les cobayes témoins, sensibilisés dans les mêmes conditions que les précédents, reçoivent dans le cerveau le même échantillon de sérum, lequel a été dilué de trois volumes d'eau distillée, puis ramené à son volume initial, sans avoir été préalablement chauffé; tous ces cobayes sont pris de troubles anaphylactiques les mieux caractérisés.

Il s'ensuit donc que le chauffage du sérum à 100°, non accompagné de coagulation, suffit à lui seul pour rendre l'épreuve intracérébrale inoffensive.

Que devient donc à cette température la substance dite toxique du sérum, comme c'est l'usage de l'appeler? Est-elle

1. Un sérum que l'on évapore à siccité après l'avoir dilué d'eau et chauffé à 100°, ne se redissout plus bien dans l'eau distillée.

simplement atténuée et remplacée par une variété atoxique, ou bien est-elle détruite au point de ne laisser subsister aucune trace dans le sérum porté à 100° ?

***

Pour répondre à cette question, nous n'avons qu'à interroger les faits.

Prenons un cobaye sensibilisé auquel on avait injecté la veille du sérum chauffé à 100°, dans le cerveau. Soumettons ce cobaye, dont l'aspect extérieur ne trahit aucun trouble, à une nouvelle épreuve intracérébrale, cette fois avec du sérum de cheval, non chauffé. Nous ne tarderons pas à constater que ce cobaye a conservé à peu près intégralement son hypersensibilité : au bout de 1-2 minutes il va succomber au milieu des phénomènes classiques.

Donc, l'injection du sérum chauffé à 100°, faite 24 heures auparavant, ne l'a pas préservé contre les accidents anaphylactiques : en d'autres termes, les choses se passent, à peu de choses près, comme si, au lieu de sérum, on avait injecté un liquide indifférent tel que l'eau salée ou le bouillon.

Nous disons que les choses se passent à peu de choses près comme, etc., car en regardant mourir les cobayes en question on a l'impression que chez eux les troubles anaphylactiques évoluent avec moins de brutalité et durent plus longtemps que chez les cobayes témoins.

Cette impression s'affirme davantage lorsque du sérum chauffé (100°) est injecté non dans le cerveau, mais dans le péritoine (4-5 c. c.). Dans ce cas, les cobayes qui avaient été d'abord sensibilisés, puis injectés avec 4-5 c. c. de sérum chauffé (100°), supportent mieux l'épreuve cérébrale que les témoins ; cela ne les empêche pas, du reste, de mourir 5-10 minutes plus tard d'anaphylaxie, dans la plupart des cas.

Cela est vrai lorsque l'intervalle entre l'injection intrapéritonéale de sérum chauffé, d'une part, et l'épreuve intracérébrale (1/4 c. c.), d'autre part, ne dépasse pas 24 heures.

Mais, chose curieuse, si cet intervalle est plus long et si l'on attend, avant d'éprouver le cobaye, 4-5-6 jours, le phénomène se présente sous un aspect tout autre : l'épreuve cérébrale provoque, dans ces conditions, tout au plus une toux anaphylactique et des phénomènes d'excitation, et c'est tout ; jamais on

n'observe ni les grands phénomènes d'anaphylaxie, ni la mort qui en est l'aboutissant ordinaire. Ce qui veut dire que le sérum, bien que chauffé à 100°, finit au bout de 5-6 jours par conférer une certaine immunité au cobaye. Tout n'est donc pas détruit dans un pareil sérum.

Ce qui ressort surtout de cette expérience, c'est que le pouvoir réactionnel d'un sérum chauffé à 100° est tellement amoindri que, pour le mettre en évidence, il ne faut pas moins de plusieurs jours.

Si donc la température de 100° amène des modifications aussi profondes dans le mode d'actions du principe toxique du sérum, il y a lieu d'escompter une atténuation, du moins très appréciable au-dessous de 100°. C'est en effet ce que l'expérience a montré.

***

Trois portions d'un sérum de toxicité connue sont chauffées pendant 20 minutes respectivement à 76°,5, à 89° et à 95°; de chaque échantillon il est injecté 1/4 c. c. dans le cerveau de deux cobayes sensibilisés.

De plus, deux cobayes sensibilisés reçoivent 1/4 et 1/10 c. c. de ce même sérum, non chauffé. Le premier de ces cobayes meurt en quelques instants avec les symptômes connus; le deuxième est très éprouvé, mais se remet une demi-heure après.

Quant aux autres cobayes, voici quel en fut le sort :

Un des cobayes, qui a reçu du sérum chauffé à 75°, 5, a présenté des troubles anaphylactiques assez sérieux; l'autre n'a presque pas été malade. Les quatre autres cobayes, injectés avec des sérums chauffés à 89° et 95°, ont eu soit des troubles légers, ou n'ont présenté aucun symptôme.

Il est donc certain que la substance toxique du sérum est fortement entamée, même au-dessous de 100 degrés.

Nous avons établi antérieurement que le sérum de cheval est susceptible de vacciner, dans certaines conditions, les cobayes sensibilisés contre les accidents d'anaphylaxie.

Or, les expériences avec les sérums chauffés montrent que plus le sérum est chauffé plus, par conséquent, il est touché dans sa toxicité, et moins il est vaccinant.

En effet, lorsque deux jours après la première injection

intracérébrale, nous éprouvâmes tous les cobayes survivants, avec du sérum non chauffé, dans le cerveau, nous avons observé ceci : tous étaient vaccinés, il est vrai, mais d'une façon très inégale.

Le témoin qui a résisté l'avant-veille à 1/10 c. c. de sérum non chauffé, se montra complètement réfractaire ; quant aux autres, ils ont été tous plus ou moins malades ; aucun d'eux n'est mort ; mais, les cobayes les plus éprouvés lors de la deuxième injection étaient précisément ceux qui avaient reçu l'avant-veille du sérum le plus chauffé (95°).

D'une manière générale, les animaux ont réagi d'autant plus fortement à la seconde injection qu'ils avaient moins réagi à la première.

Le pouvoir vaccinant du sérum suit donc la même courbe que le pouvoir toxique.

*
* *

Pour être applicable aux sérums thérapeutiques, le chauffage doit pouvoir s'effectuer à des températures notablement inférieures à celles indiquées plus haut ; il faut trouver des conditions de chauffage telles qu'elles permettent de réaliser le maximum d'atténuation des propriétés toxiques avec le minimum de perte des propriétés curatives.

Nous avons donc cherché à ne pas dépasser 59-60°, température à laquelle les anticorps restent généralement intacts. La durée du chauffage variait de 1 heure à 7 heures.

Toutes les expériences étaient faites avec le même sérum ; celui-ci fut choisi très toxique, de façon à permettre de suivre de très près la diminution progressive de la toxicité, suivant la durée du chauffage.

Ce sérum non chauffé était de toxicité telle que, à la dose de 1/40 c. c. injecté dans le cerveau, il tuait le cobaye sensibilisé ou provoquait des troubles anaphylactiques très graves.

Après chauffage à 60° pendant 1 heure, trois jours de suite, la toxicité du sérum était la suivante :

1/4 c. c.	Mort certaine.
1/10 c. c.	Symptômes très graves, non suivis de mort.
1/20 c. c.	Pas de symptômes.

Après chauffage à 60° pendant 1 heure, cinq jours de suite :

1/4 c. c.........	Mort certaine.
1/8 c. c.........	Symptômes sérieux, mais passagers.
1/16 c. c.........	Presque pas de symptômes.

Après chauffage à 60° pendant 1 heure, sept jours de suite, les résultats étaient les mêmes que plus haut.

On voit donc que le chauffage même modéré, mais prolongé, peut diminuer la toxicité d'un sérum de 4-5 fois.

Même à la température de 56°, la toxicité du sérum se trouve sensiblement atténuée.

Un cheval est saigné le 10 septembre.

Le sérum est retiré le 12 septembre et divisé en deux portions.

Une portions *A* est laissée à la glacière.

Une portion *B* est chauffée une heure à 5°6 — le 12 septembre
— — — — — le 13 septembre
— — — — — le 14 septembre
— — deux heures — — le 15 septembre

Le 16 septembre, on injecte dans le cerveau à plusieurs cobayes sensibilisés du sérum *A* et *B*.

Sérum A non chauffé.		Sérum B chauffé.	
1/16 c. c.	Syptômes anaphylactiques graves, état agonisant, se remet très lentement.	1/16 c c.	Pas de symptômes.
1/12 c. c.	Symptômes très violents; mort en 2 minutes.	1/12 c. c.	Toux; aucun autre symptôme.
1/8 c. c.	Symptômes très violents; mort en 1-2 minut.	1/8 c. c.	Toux, convulsions, collapsus; se rétablit au bout de 3 minutes.
1/4 c. c.	Symptômes très violents; mort en 2 minutes.	1/4 c. c.	Symptômes très violents; mort en 1-2 minutes.

Il ressort nettement de cette expérience que le sérum qui a été chauffé trois jours de suite à 56°, une heure par jour et, la quatrième fois, deux heures, est *trois fois moins toxique* que le même sérum non chauffé.

Pour en finir avec l'action de la température, disons qu'aux environs de 40° la toxicité n'est presque pas touchée. Ainsi, nous avons laissé un sérum à l'étuve à 37° pendant 5 jours consécutifs, sans observer de changement sensible dans sa toxicité.

*
* *

Vu le caractère thermolabile de la substance toxique du sérum, il était tout naturel de se demander si cette substance n'est pas susceptible de donner un anticorps.

A cet effet nous avons immunisé des cobayes avec du sérum de cheval; *a priori* on pouvait admettre que le sérum de ces cobayes, mélangé avec celui de cheval, fût en état d'enrayer les troubles anaphylactiques, lors de l'épreuve intra-cérébrale.

L'expérience a montré qu'il n'en est rien: même ajouté à volume égal (1/8 c. c. sérum de cheval + 1/8 c. c. sérum de cobaye préparé), le sérum de ce dernier se montra dépourvu de toute action antitoxique.

* * *

Il n'existe donc pas jusqu'à présent de moyens directs, excepté le chauffage, permettant de toucher la substance spécifique du sérum. Et cependant rien n'est plus facile que d'empêcher les accidents d'anaphylaxie, lorsqu'on s'adresse à la voie indirecte, c'est-à-dire, à l'animal lui-même.

Nous avons déjà décrit ailleurs[1], plusieurs procédés de vaccination contre l'anaphylaxie; tous ces procédés sont basés sur l'emploi du sérum de cheval, soit pendant la période préanaphylactique, soit même en pleine période d'anaphylaxie (doses minimes dans le cerveau).

Mais à côté de cette vaccination d'ordre spécifique, on peut obtenir l'immunité par un mécanisme tout différent.

Sur le conseil de M. Roux, nous essayâmes d'arrêter les phénomènes d'anaphylaxie au moyen de narcotiques.

Des cobayes sensibilisés, tout prêts à l'éclosion de troubles anaphylactiques, sont endormis à l'éther. Aussitôt que les muscles entrent en résolution, on leur injecte rapidement, dans le cerveau, 1/4 c. c. de sérum de cheval. Pour gagner du temps et ne pas troubler le sommeil des animaux, nous pratiquons le trou, avant de soumettre l'animal à la narcose Une fois que le cobaye est endormi, il ne reste qu'à passer la canule de la seringue à travers le trou et à injecter 1/4 c. c de sérum. Si la narcose est bien conduite, le cobaye continue à dormir après l'injection, et au bout d'une demi-heure environ il se réveille sans présenter le moindre symptôme d'anaphylaxie.

Lorsque, le lendemain, on injecte à ce cobaye une nouvelle dose (1/4 c. c.) de sérum, il ne réagit plus : il est vacciné.

Le sérum de la veille, bien que n'ayant provoqué aucun trou-

1. Ces *Annales*, février et mai 1907.

ble apparent, avait néanmoins conféré l'immunité à l'animal.

*
* *

Les résultats de l'expérience sont tout autres lorsqu'on se sert de chlorhydrate de morphine. Pour obtenir la narcose, on est amené à en injecter des doses énormes (14 à 18 centigrammes pour des cobayes de 320-350 grammes), et encore ne réussit-on pas à provoquer une vraie narcose. L'animal offre un état d'hébétude accompagnée de raideur musculaire des plus marquées et, à l'épreuve cerébrale, il est pris de troubles caractéristiques et meurt comme un simple cobaye sensibilisé.

Pour avoir une vraie narcose avec résolution complète des muscles, il faut se servir d'extrait d'opium.

Un cobaye de 300-350 grammes, auquel on injecte dans le péritoine 1 c. c. d'extrait d'opium au 1/10, s'endort déjà au bout de 2-3 minutes d'un sommeil profond et reste indifférent à toute excitation extérieure.

Mais il suffit d'injecter à un tel cobaye, dans le cerveau, 1/4 c. c. de sérum pour le voir, une minute après, pris de soubresauts convulsifs ; la respiration s'accélère, puis, les inspirations se font de plus en plus profondes, et l'issue devient fatale. Le tableau d'anaphylaxie est au complet, sauf la phase d'excitation qui manque ; au lieu de se livrer à une course affolée avant de tomber en collapsus, le cobaye endormi à l'opium fait son anaphylaxie sur place, tout en dormant.

Le témoin, sensibilisé et narcotisé de la même façon, mais non soumis à l'épreuve intracérébrale, reste longtemps endormi, puis revient peu à peu à l'état normal.

L'extrait d'opium, à l'encontre de l'éther, laisse donc l'hypersensibilité des cobayes complètement intacte.

*
* *

CONCLUSIONS

La substance du sérum dite toxique, celle qui tue le cobaye sensibilisé, peut être attaquée par des moyens directs ou indirects.

De tous les moyens *directs* qui sont d'ordre chimique, physique ou biologique, seul l'emploi de températures élevées permet d'atténuer ou de faire disparaître à peu près complètement l'effet toxique du sérum.

Cet effet toxique décroît d'une manière progressive avec la température ; très amoindri à 76°, il devient nul à 100°.

Cette échelle de toxicité est aussi celle du pouvoir vaccinant ; ces deux propriétés marchent de pair et dans le même sens : encore très marqué dans le sérum chauffé à 76°.5, le pouvoir vaccinant s'affaiblit avec la température : il est réduit au minimun dans le sérum chauffé a 100°.

Le chauffage répété de sérum à 60° peut diminuer sa toxicité de quatre ou cinq fois.

Le chauffage à 56°, répété quatre jours de suite, pendant une heure, est même susceptible de diminuer la toxicité du sérum de trois fois.

Les moyens *indirects* consistent dans l'emploi du sérum à titre préventif, soit pendant la période préanaphylactique, soit en pleine période d'hypersensibilité.

Les accidents anaphylactiques peuvent être enrayés par la narcose à l'éther : l'animal se réveille vacciné.

Par contre, ni le chlorhydrate de morphine, ni l'extrait d'opium ne mettent le cobaye sensibilisé à l'abri des accidents anaphylactiques.

Lésions de l'intestin grêle du porc produites par l'Echinorynque géant.

Nouvelle contribution à l'étude du rôle des Helminthes dans l'étiologie des maladies infectieuses.

Par MM. WEINBERG et ROMANOVITCH

(avec la planche XXII)

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Dans un mémoire précédent, l'un de nous [1] a exposé une série de faits, observés par lui chez l'homme et les animaux, montrant que les Helminthes peuvent jouer un rôle important dans l'étiologie des maladies infectieuses, soit en inoculant des agents pathogènes, soit en favorisant leur pénétration dans la paroi intestinale de leur hôte.

Bien que les observations relatées dans ce travail nous paraissent de nature à entraîner la conviction du lecteur, nous ne croyons pas inutile de publier d'autres faits précis montrant le bien fondé des idées qui y sont défendues et qui ont été inspirées à l'un de nous par notre maître M. Metchnikoff.

Lors d'un séjour que nous fîmes cette année à Tunis, nous avons eu l'occasion, grâce à l'obligeance de M. Ducloux, directeur du service de l'élevage, et à celle de MM. les vétérinaires Thuilier et Henry, d'examiner un grand nombre d'animaux à l'abattoir de cette ville.

Nous avons pu ainsi récolter un certain nombre de documents intéressants en ce qui concerne les lésions produites par les Helminthes qu'on rencontre dans ce pays.

Nous voulons consigner dans cette note quelques observations recueillies par nous, à l'abatage des porcs, et qui apportent un argument précieux en faveur de la thèse de l'inoculation des microbes par les vers intestinaux.

Il s'agit des lésions causées par l'Echinorynque géant. (*Gigantorhynchus gigas* Gœze).

« Ce dernier se présente sous forme d'un corps blanc laiteux, parfois nuancé de bleu ou de brun, cylindroïde, souvent renflé en divers points de sa longueur, montrant après la mort des rides transversales irrégulières » (Railliet).

1. M. Weinberg, Du rôle des Helminthes, des larves d'Helminthes et des larves d'insectes dans la transmission des microbes pathogènes, *Annales de l'Institut Pasteur*, juin et juillet 1907.

Il possède une trompe rétractile munie de 5 ou 6 rangées de crochets recourbés en arrière. On peut parfaitement s'en rendre compte en passant la pulpe du doigt sur la trompe des individus de grande dimension. On sent alors très bien le picotement d'une surface hérissée d'épines.

On distingue très facilement le mâle de la femelle, qui est beaucoup plus longue et peut atteindre jusqu'à 30-35 centimètres, le mâle ne dépassant guère 10 centimètres.

On comprend aisément qu'un parasite intestinal de cette taille et possédant un nombre aussi considérable de crochets puissants, doivent occasionner des lésions importantes de la paroi intestinale sur laquelle il se fixe, parfois si solidement, qu'il faut exercer une traction énergique pour l'en détacher.

On a écrit fort peu de choses sur les lésions déterminées par ce parasite. On trouve cependant quelques indications dans les articles de Kocoureck, Hurtrel d'Arboval, etc. Ces auteurs ont bien remarqué que l'Echinorynque géant est capable de perforer la paroi intestinale du porc et de passer dans la cavité abdominale. On a constaté aussi quelquefois des lésions péritonéales et des adhérences intestinales; mais on n'a encore étudié ni l'étiologie ni la filiation des lésions observées. L'examen des pièces rapportées par nous de l'abattoir de Tunis nous permet de combler en partie cette lacune.

Nos recherches portent sur l'intestin de cinq porcs, chez lesquels nous avons trouvé un nombre considérable d'Echinorynques géants. Ces parasites étaient fixés presque tous sur la paroi de la première portion de l'intestin grêle. Les 4 figures que nous joignons à notre note permettront au lecteur de se rendre compte de la façon dont se fixe ce parasite et de l'aspect de quelques-unes des lésions causées par lui.

La figure 1 montre que les Echinorynques peuvent se fixer parfois si rapprochés et en si grand nombre qu'ils arrivent, par leur masse, à rétrécir considérablement le canal intestinal. Au point de fixation de leur rostre, la muqueuse forme un petit bourrelet saillant. On voit en *b* l'ulcération profonde produite par la fixation de cet animal. Quelquefois ce rebord est rouge, congestionné.

Lorsqu'on examine la surface péritonéale de l'intestin grêle de ces porcs, on est frappé du grand nombre de petites nodosités

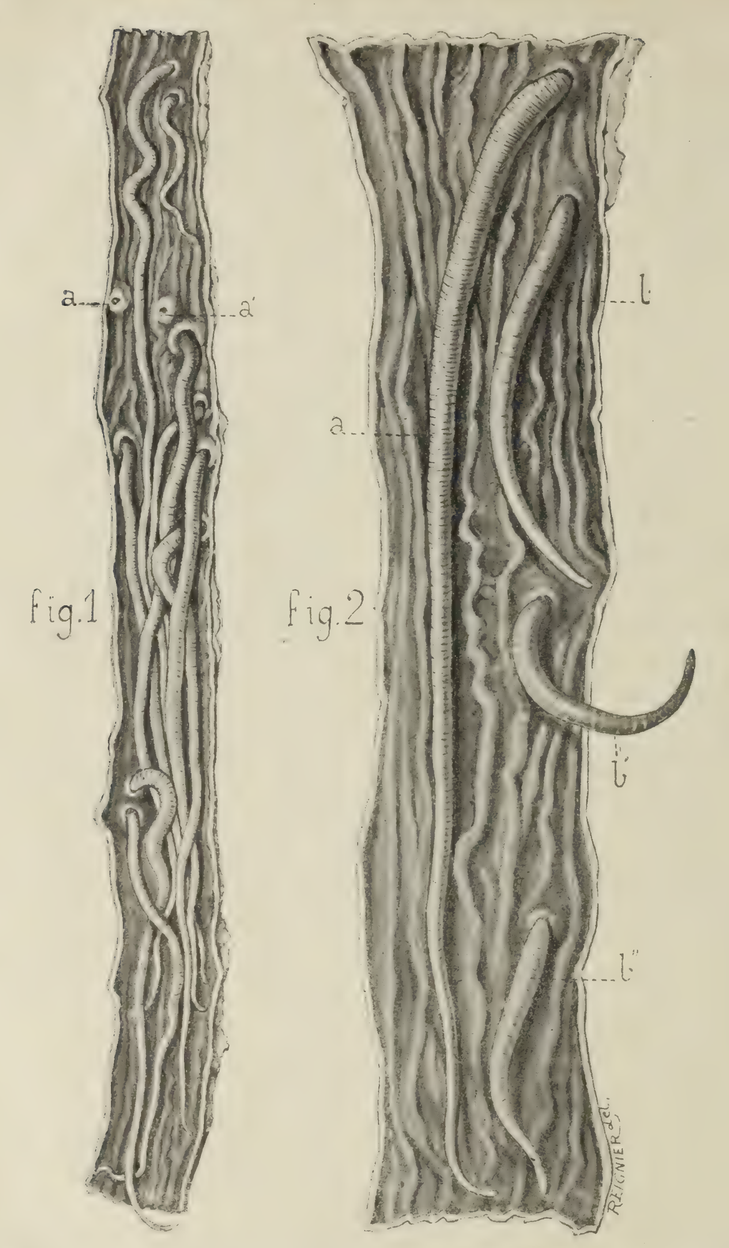


Fig. 1 (grandeur demi-nature). Echinorynques géants fixés sur la paroi de l'intestin grêle du porc. Leur nombre était, dans ce cas, si grand que par leur masse ils rétrécissaient considérablement le canal intestinal.

On voit en *a*, *a'*, des ulcérations profondes que laissent les parasites détachés. Ces ulcérations présentent un bourrelet saillant.

Fig. 2 (grandeur nature). *a*, femelle d'Echinorynque ; *b*, *b'*, mâles.

saillantes dans la cavité péritonéale, blanchâtres, brillantes et, ainsi que l'avait remarqué Kocoureck, assez semblables à des perles.

Tous ces nodules correspondent bien aux points de fixation des Helminthes sur la paroi intestinale.

La plupart d'entre eux sont situés du côté du bord de l'intestin; quelques-uns cependant font saillie contre le bourrelet graisseux du mésentère. D'autres se trouvent même dans son épaisseur. Nous n'avons pas eu l'occasion de constater de perforation intestinale due à l'intervention de l'Echinorynque.

L'étude histologique de nos pièces montre que l'Echinorynque ne produit pas toujours de véritables lésions inflammatoires au point de sa fixation sur la paroi intestinale.

Nous voyons en effet que, dans l'observation se rapportant à la figure 4, on constate une perte de substance due uniquement à l'action mécanique du parasite.

Ce dernier, en enfonçant sa trompe dans la paroi de l'intestin grêle, détruit d'abord la muqueuse et pénètre ensuite dans la sous-muqueuse qu'il lèse en général dans

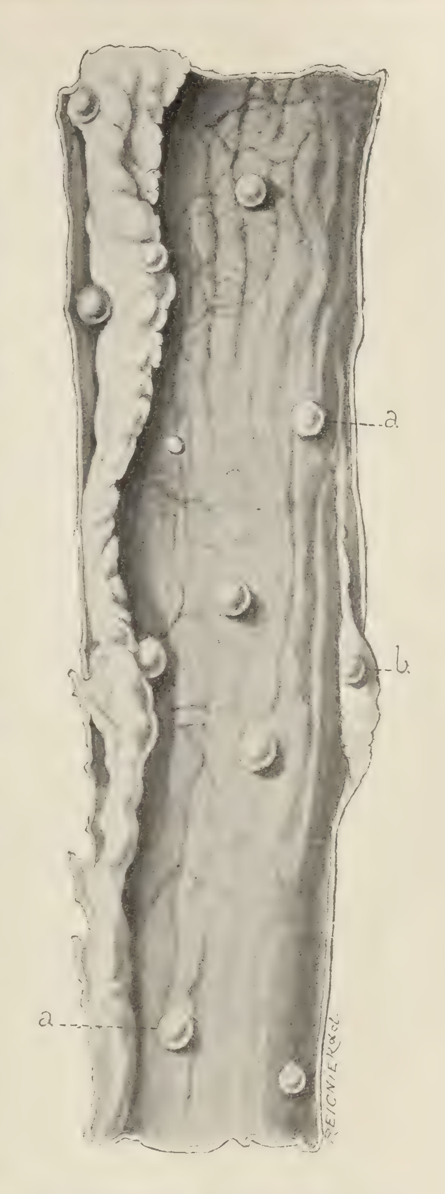


Fig. 3 (grandeur nature). Surface péritonéale d'une portion de l'intestin grêle su lesquels sont fixés des Echinorynque géants. En *a*, *a'*, nodosités perlées correspondant aux points de fixation des parasites. *b*, un nodule faisant saillie à travers le bourrelet graisseux du mésentère.

toute son épaisseur. Il entame parfois la couche musculaire interne.

Dans quelques-unes de nos préparations on peut même voir que ce parasite est capable de détruire la couche musculaire interne dans toute son épaisseur, exclusivement par la pression qu'il exerce et l'action de ses crochets, sans produire autour de lui la moindre infiltration inflammatoire.

Lorsqu'on examine à un plus fort grossissement les coupes comprenant à la fois la tête du parasite et la paroi intestinale, on constate que la sous-muqueuse est tassée au voisinage de l'Echinorynque. Il en est de même pour les cellules musculaires, lorsque la couche musculaire interne est comprimée par le parasite. On trouve parfois dans ces coupes, de chaque côté de la tête du ver, une légère agglomération cellulaire qu'on pourrait prendre pour une infiltration. Cette infiltration n'est qu'apparente et ne représente que les vestiges de la muqueuse refoulée et comprimée par la partie latérale du rostre. Ce dernier, en s'enfonçant dans l'épaisseur de la paroi intestinale, refoule latéralement la muqueuse et la sous-muqueuse qui se plissent et forment le bourrelet dont nous avons constaté la présence à l'examen microscopique.

La muqueuse de l'intestin grêle présente au voisinage de l'Echinorynque une infiltration régulière, dans laquelle on reconnaît surtout des cellules éosinophiles. Cette infiltration par les cellules éosinophiles se retrouve dans toutes nos coupes, que la fixation de l'Helminthe s'accompagne ou non de lésions inflammatoires.

Tantôt elle est nettement limitée à la muqueuse, sans qu'on puisse trouver ailleurs des cellules éosinophiles; tantôt on peut voir un certain nombre de ces cellules dans d'autres couches et surtout dans la couche sous-péritonéale.

Les constatations que nous venons de faire nous permettent d'affirmer que l'Echinorynque géant peut se fixer sur la muqueuse intestinale du porc sans faire d'autres lésions que celles produites par un simple traumatisme aseptique.

Il n'en est pas toujours ainsi. Nous avons, en effet, pratiqué une série d'examens bactériologiques du contenu des nodules trouvés aux points de filtration des Echinorynques.

Pour cela, nous avons fait des ensemencements après avoir

cautérisé au fer rouge la surface péritonéale du nodule, dont nous puisions le contenu dans une pipette effilée. L'ensemencement a été fait en milieux glycosés pour aérobies et anaérobies.

Dans beaucoup de cas nous avons ainsi obtenu des cultures, soit d'une seule espèce, soit de plusieurs espèces microbiennes.

De plus, nous avons constaté plusieurs fois, sur des coupes histologiques, une infiltration inflammatoire intense au point de fixation de l'Echinorynque. Cette inflammation doit être mise sur le compte des microbes qu'on trouve dans ces endroits et qui ont été, nous semble-t-il, inoculés par les parasites.

En effet, les coupes en série montrent bien que l'Echinorynque ne s'est pas fixé sur une ulcération préalable de la muqueuse.

Parmi les lésions produites par l'Echinorynque, il y en a une qui nous a surtout frappés et sur la description de laquelle nous allons nous arrêter un instant. Il s'agit des lésions d'entérite nécrosante infectieuse aiguë que nous avons trouvées au niveau des nodules inflammatoires saillants à la surface péritonéale, tels qu'ils sont représentés sur la figure 3.

La planche jointe à ce travail représente exactement ces lésions.

Lorsqu'on examine des coupes histologiques de la paroi intestinale passant au niveau de ces nodules, on constate que le rostre du parasite, enfoncé profondément dans la sous-muqueuse, est entouré de toutes parts par une masse d'un rose brillant qui représente les tissus nécrosés. Le placard nécrotique s'étend en s'élargissant vers la couche sous-péritonéale. Ainsi toute l'épaisseur de la paroi de l'intestin grêle est atteinte par le processus nécrosant à ce niveau. Cependant la région nécrosée présente à proximité de la tête de l'Echinorynque une teinte d'un rouge plus foncé que près de la région sous-péritonéale.

Cette différence tient à l'action plus ou moins intense du processus nécrosant dans ces deux régions.

La partie du placard nécrosé qui se trouve au voisinage immédiat du parasite ne montre pas un seul élément permettant de reconnaître la sous-muqueuse ou les couches musculaires atteintes par cette lésion. On ne trouve à leur place, à un

fort grossissement, que de brillantes et fines granulations. Au contraire, vers la région sous-péritonéale et dans le mésentère, les cellules nécrosées ont encore conservé en partie leur aspect morphologique.



Fig. 4. Cette figure montre une trompe d'Echinorynque fixée sur la paroi de l'intestin grêle du porc. Grossissement : 32 diamètres. On voit que le parasite, en enfonçant sa trompe, a détruit sur son passage la muqueuse et la sous-muqueuse et qu'il enfonce ses crochets antérieurs dans la couche musculaire interne. On ne voit pas d'infiltration inflammatoire autour de la trompe de l'Echinorynque.

Cependant, la plupart d'entre elles ne montrent plus de noyau. La couche nécrosée est entourée, de chaque côté, par un vaste placard d'infiltration inflammatoire qui s'étend de la muqueuse vers la couche sous-péritonéale et vient se confondre avec l'infiltration du mésentère. Même à un faible grossisse-

ment, on constate, à la périphérie de la zone inflammatoire, des traînées de cellules éosinophiles. On retrouve également ces cellules dans les couches musculaires du voisinage,

A un fort grossissement, on y voit surtout des cellules mononucléaires mêlées à des cellules éosinophiles, dont le nombre croît à mesure qu'on s'éloigne du placard nécrosé.

La plupart des capillaires que l'on trouve à ce niveau montrent les cellules endothéliales très tuméfiées. Il en est de même pour les vaisseaux lymphatiques.

Sur les coupes colorées par la thionine. on constate la présence d'un nombre considérable de microbes au niveau du placard nécrosé. Ces microbes se présentent sous forme de bâtonnets qui ne se colorent pas par la méthode de Gram.

On retrouve les mêmes microbes sur la paroi du rostre de l'Echinorynque, ainsi que dans la zone d'infiltration périnécrotique où ils sont moins nombreux.

Il nous paraît évident que l'entérite nécrosante que nous avons décrite est due à un bacille inoculé dans la paroi intestinale par la tête du parasite.

On comprend alors le mécanisme de la perforation qui se produit dans les cas semblables. La paroi nécrosée cède à la poussée de l'Echinorynque qui enfonce toujours en avant sa partie rostrale. Il se fait une perforation à travers laquelle le parasite passe dans la cavité péritonéale.

Dans les cas que nous avons étudiés, la perforation ne s'est pas produite parce que le placard nécrosé a été protégé par le mésentère qui n'a été atteint par le processus nécrosant que dans sa portion la plus interne. Ce fait a été constaté maintes fois par l'un de nous au cours de ses recherches sur l'appendicite nécrosante. Lorsque ce processus aigu détruit la paroi appendiculaire, le malade peut échapper à la perforation intestinale, quand la lésion en question siège du côté du méso-appendice.

CONCLUSIONS

1. En se fixant sur la paroi intestinale du porc, l'Echinorynque géant peut détruire, par des moyens purement mécanique, la muqueuse, la sous-muqueuse, et même la couche muslaire interne, sans produire autour de lui la moindre lésion inflammatoire.

La présence des cellules éosinophiles, qu'on trouve disséminées dans le chorion de la muqueuse au voisinage des Echinorynques fixés sur la paroi de l'intestin grêle, est tout à fait indépendante de la nature des lésions provoquées par les Helminthes en question.

2. Dans certains cas, ce parasite inocule, par son rostre, dans la paroi intestinale, des agents pathogènes qui déterminent soit une entérite infectieuse banale, soit une entérite nécrosante aiguë pouvant amener une perforation intestinale.

3. L'étude des lésions causées par l'Echinorynque géant apporte un nouveau et sérieux argument en faveur du rôle des Helminthes dans l'étiologie de certaines lésions infectieuses.

Explication de la planche XXII.

Fig. 1. Coupe histologique d'un nodule inflammatoire trouvé au point de fixation de l'Echinorynque géant sur l'intestin grêle du porc. Coloration par l'hématéine-éosine. Grossissement; 10 diamètres.

a) Partie céphalique du parasite dont la trompe a traversé la muqueuse, la sous-muqueuse et les couches musculaires. Il s'est formé autour de la trompe un vaste placard de tissus nécrosés (*b*) qui s'étend jusque dans le mésentère.

c) Zone d'infiltration inflammatoire autour du placard de nécrose.

d) Un foyer nécrotique dans la partie profonde du mésentère.

Fig. 2. Coupe histologique du même nodule coloré par la thionine.

a) représente la paroi de la trompe de l'Echinorynque géant tapissée par un nombre considérable de bacilles colorés en bleu par la thionine.

b) Région nécrosée qui se trouve au voisinage immédiat du parasite. Cette région montre également beaucoup de mêmes microbes.

c) Zone d'infiltration cellulaire péri-nécrotique dans laquelle, au milieu des cellules mononucléaires, on trouve des microbes et des granulations nucléaires résultant de la désagrégation d'un certain nombre de leucocytes.

Les Trypanosomiases de la Haute-Côte d'Ivoire.

Note préliminaire.

PAR LE D[r] G. BOUET

Médecin-major des troupes coloniales, chargé de mission scientifique par le Gouvernement général de l'Afrique occidentale française.

Dans une note précédente[1], nous avons signalé l'existence en Basse-Côte d'Ivoire d'au moins une trypanosomiase animale, due à *Trypanosoma dimorphon*. Le virus provenant d'une vache infectée, envoyé en France, y a été reconnu comme ne différant pas du *T. dimorphon* type, tel qui existe actuellement dans les laboratoires[2].

Nous signalions également l'existence enzootique de *T. Cazalboui*, trouvé chez un jeune veau qui n'avait pu avoir de contact avec des bœufs importés, d'origine soudanaise ou sénégalaise, bœufs fréquemments atteints de *T. Cazalboui*.

Enfin nous avions constaté, chez le chien en Basse-Côte d'Ivoire, l'existence d'un trypanosome qui se rapproche plus du type Togo-Nagana de Schilling que du type *Pecaudi*, que vient de décrire Laveran[3].

Poursuivant nos recherches depuis cette époque, nous avons successivement visité le Baoulé, région de savanes, se rapprochant, botaniquement, sinon ethnographiquement, beaucoup de la zone soudanaise et qui, actuellement, est le trait d'union, par sa route principale, entre la Haute-Côte d'Ivoire et la Basse-Côte ; puis la région de Kong, actuellement rattachée administrativement à la Côte d'Ivoire, ce dernier territoire en réalité fait partie de l'ancien Soudan aujourd'hui démembré, et dont la colonie du Haut-Sénégal-Niger n'a conservé qu'une partie, abandon-

1. Ces *Annales*, juin 1907.

2. Morphologiquement et d'après son action pathogène pour la souris, ce virus du D[r] Bouet nous a paru identique au *dimorphon* type (voir LAVERAN et MESNIL, *Trypanosomes et Trypanosomiases*, p. 209-212). Toutes les formes manquaient de flagelle libre. Nous sommes persuadé que cette absence est un caractère constant du *T. dimorphon sensu stricto*. Il est de plus en plus probable que DUTTON et TODD, en Gambie, ont observé chez le cheval plusieurs Trypan. distincts : ils n'ont sans doute ramené à Liverpool que l'espèce sans flagelle libre. — F. MESNIL.

3. Ces *Annales*, mai 1907.

nant certaines régions à la Guinée (Haute-Guinée) et à la Côte d'Ivoire.

Il était donc naturel de penser qu'on y rencontrerait les trypanosomiases qui règnent en Haute-Guinée comme celles du Haut-Sénégal-Niger.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il nous paraît impossible de dire si les trypanosomiases dues à *T. dimorphon*, *T. Pecaudi* et *T. Cazalboui*, trouvées dans la Haute-Côte d'Ivoire, y sont enzootiques depuis longtemps ou si elles sont d'importation récente. Pour celle due à *T. Cazalboui*, nous pencherions pour cette dernière hypothèse. Pour les autres trypanosomiases, le problème nous semble loin d'être résolu.

Quoi qu'il en soit, nous allons indiquer à grands traits les routes commerciales qui aboutissent à ces régions et servent à un très important et incessant trafic d'animaux domestiques.

Nous avons dit dans notre première note quelles étaient les voies d'accès de la Haute-Côte d'Ivoire à la Basse-Côte. Actuellement il n'y en a que deux : celle de Baoulé par Bouaké et Toumodi vers Tiassalé-Lahou ; puis celle de Bouna, Bondoukou vers Aboisso-Assinie. Une troisième se formera avec le chemin de fer.

Pour la Haute-Côte, le nombre des routes est de beaucoup plus considérable ; les plus importantes sont parallèles aux méridiens et viennent du nord ; il y en a 5 ou 6. Quelques-unes viennent de la Guinée par l'ouest. Il n'en est aucune venant de l'est.

Ce sont, au contraire, nos caravanes qui approvisionnent en viande de boucherie et en chevaux la colonie anglaise voisine de la Gold-Coast par Bondoukou.

Dans l'étude qu il a publiée sur les trypanosomiases de la Guinée française, le D[r] G. Martin a montré que la Guinée, elle aussi, était tributaire des régions de la boucle du Niger en même temps que du fleuve Sénégal.

En Haute-Côte d'Ivoire, c'est surtout la boucle du Niger qui approvisionne le marché ; mais quelques animaux, surtout des bœufs et des ânes, viennent parfois des régions guinéennes (Fouta-Djallon), et surtout de la Haute-Guinée (Kankan, Siguiri).

Egalement, des Maures de la région du Sahel apportent des

bœufs, des moutons et des ânes jusqu'aux confins de la forêt de la Côte d'Ivoire. Un important commerce de noix de kola permet, en effet, à ces traitants de remonter, chargés du précieux produit, dans les pays soudanais. Laveran, dans le travail que nous avons cité, faisait remarquer, d'après le vétérinaire Pierre, que la transhumance du bétail soudanais, due à la perception de l'impôt en nature, était une cause de dispersion des maladies à trypanosomes.

Le libre trafic et la demande continuelle des régions presque dépourvues de bétail autochtone, comme la Basse-Côte d'Ivoire ou jadis dépeuplées de leur cheptel par Samory, comme la zone de Kong à Odienné et Touba, sont également des facteurs dont l'importance n'échappera pas et qu'il semble difficile de supprimer ou même simplement d'atténuer. La prospérité de ces pays est faite, pour beaucoup, de ces échanges avec le Soudan : bœufs et chevaux à l'importation ; noix de kola à l'exportation.

De tout ce que nous venons d'exposer, il résulte que l'on rencontre en Haute-Côte d'Ivoire des animaux domestiques, — bœufs à bosse pour la boucherie ou le transport, bœufs sans bosse pour la reconstitution du cheptel, chevaux, ânes, moutons, — provenant des régions soudanaises, qui se mélangent aux troupeaux autochtones récemment reconstitués dans certaines parties par des apports semblables, plus anciennement dans d'autres. Rares encore actuellement sont les centres où l'on trouve des bœufs adultes nés sur place.

Quant au Baoulé, qui a des troupeaux autochtones (bœufs, moutons, chèvres), nous avons déjà signalé le danger de l'importation du bétail soudanais dans cette région.

Adoptant le plan que nous avons suivi dans notre précédente note, nous passerons successivement en revue les divers animaux domestiques que nous avons rencontrés.

Cheval. — Jusqu'à Toumoudi (Baoulé), nous n'avions pas rencontré de chevaux. Le premier qu'il nous fut donné de voir venait des environs de Ségou (Haut-Niger) et se trouva être atteint de *T. Pecaudi* dont il mourut, du reste. A partir de ce point, il n'est pas une agglomération un peu importante qui ne possède quelques échantillons de la race chevaline. Nous avons examiné jusqu'ici 125 chevaux sur lesquels 35 ont présenté, à

l'examen pratiqué en général une seule fois, des trypanosomes.

L'observation continue d'un cheval atteint de trypanosomiase nous a démontré que l'animal n'a pas chaque jour régulièrement des hématozoaires dans le sang périphérique. Nous basant sur un symptôme constant, que nous considérons comme presque infaillible : l'autoagglutination des globules rouges et le plaquage du sang, nous sommes convaincu que 100 animaux sur 125 devaient être atteints de trypanosomes. Ce symptôme de l'autoagglutination est constant chez le cheval et l'âne. Nous pensons même que le type de l'agglutination diffère selon le trypanosome auquel on a affaire. C'est ainsi que, avec *T. dimorphon*, la maladie, toujours d'assez longue durée, produit surtout le plaquage du sang; les globules sont tous agglutinés par îlots et presque impossibles à distinguer les uns des autres.

Avec *T. Pecaudi* et surtout *T. Cazalboui*, qui sont avec le *dimorphon*, les trois trypanosomiases qu'il nous a été donné de rencontrer chez le cheval, l'agglutination est nette, les globules facilement distincts les uns des autres, toujours réunis par 6 ou 7 au plus, et le sang n'est en général pas plaqué. Toutes les fois qu'il nous a été donné de constater ce plaquage ou cette agglutination, sans trouver une première fois des trypanosomes dans le sang et qu'en même temps nous avons pu suivre l'animal et pratiquer des examens répétés de son sang, nous avons toujours fini par déceler une trypanosomiase.

Quelle est la proportion de chacune des trypanosomiases observées par nous chez le cheval? Le problème, pour être résolu, eût nécessité l'examen de lames colorées de tous les animaux contaminés, sans préjudice des inoculations à des animaux sensibles. Nous pensons qu'avec un peu d'habitude, les trois trypanosomes sont relativement faciles à distinguer sur des préparations colorées. Pour *T. Cazalboui* et *T. Pecaudi*, Laveran a indiqué les différences morphologiques très nettes qui les séparent. Entre *T. Pecaudi* et *T. dimorphon*, quand ce dernier se présente sous les formes en têtard, petites et trapues, sans flagelles libres, le diagnostic est facile. Quand, à côté de ses formes, on en trouve d'autres, à flagelle libre, comme Dutton et Todd en ont signalé en Gambie, il est probable qu'il y a double infection, et la différenciation devient plus délicate; ces cas sont d'ailleurs très rares. Probablement même parmi

les trypanosomes vus jadis par Dutton et Todd, il y avait du *T. Pecaudi*.

Sur nos 35 chevaux contaminés, nous avons coloré les hématozoaires de 12 d'entre eux : 3 avaient *T. dimorphon* (petites formes seules), 3 *T. Cazalboui* et 6 *T. Pecaudi*. Tous les chevaux atteints de *T. Pecaudi* que nous avons pu suivre sont morts. Pour les autres trypanosomes, nos observations sont incomplètes ou inachevées.

Nous croyons que, de toutes les trypanosomiases sévissant sur le cheval en Haute-Côte d'Ivoire, c'est celle due à *T. Pecaudi* qui est la plus grave, celle dont la durée est la plus courte et dont la guérison est la plus rare, si même elle se produit.

Une autre question se pose. Est-il cliniquement possible de distinguer les 3 trypanosomiases du cheval les unes des autres ?

La chose nous semble difficile surtout entre *T. Cazalboui* et *T. dimorphon*. Pour *T. Pecaudi*, la rapidité des accidents (qui sont, même pour un clinicien, identiques à celles des autres trypanosomiases) permet peut-être d'assurer un diagnostic clinique.

En tous cas, les lésions à l'autopsie nous ont paru les mêmes qu'avec les deux autres trypanosomes : anémie généralisée et, partant, œdème ; hypertrophie de la rate, souvent du foie, hypertrophie ganglionnaire généralisée, congestion ou anémie du rein, sérosité dans les cavités closes (plèvre, péritoine, péricarde).

D'ailleurs nous ne faisons ici qu'indiquer ce point particulier qui aura une importance considérable le jour où l'on pourra traiter l'une ou l'autre de ces trypanosomiases.

Avant d'en terminer avec le cheval, nous ajouterons que dans une même localité nous avons pu trouver les trois trypanosomiases chez des animaux habitant depuis plus de trois ans le lieu d'observation.

Quant aux animaux nés et élevés dans le pays (il y en a fort peu), ils ne nous ont pas paru plus réfractaires aux divers trypanosomes que ceux d'importation.

Ane. — Le trafic incessant des régions soudanaises du nord avec les pays qui constituent la Haute-Côte d'Ivoire et les régions limitrophes de la forêt où pousse le kolatier, amène

chaque année des milliers d'ânes. Peu ou pas d'élevage de ce solipède est pratiqué dans les pays que nous venons de traverser. Les voyages de plusieurs mois consécutifs qu'accomplissent ces animaux, et partant la possibilité d'infection par les glossines à tous les passages des rivières ou des marigots, expliquent le fort déchet par trypanosomiases que subit l'âne en pays soudanais. Il est donc plus que tout autre le « réservoir à virus » pour les mouches sur les routes des caravanes. La proportion d'animaux infectés est vraiment extraordinaire. Tous les ânes que nous avons rencontrés ont été examinés. Il n'y a donc pas eu recherche systématique des animaux paraissant malades. 160 ânes ont été vus depuis Toumodi, 86 étaient contaminés, plus de 1 sur 2. Les remarques faites à propos du cheval sont vraies pour l'âne. Les trois trypanosomes *T. dimorphon*, *T. Pecaudi* et *T. Cazalboui* se rencontrent chez lui. Sur 15 ânes dont nous avons étudié le virus, 2 étaient porteurs de *T. dimorphon*, associé chez l'un à *T. Cazalboui*, chez l'autre à *T. Pecaudi*, 6 de *T. Pecaudi*, 7 de *T. Cazalboui*.

Rarement, pensons-nous, ces animaux résistent à leurs trypanosomiases. Des ânes appartenant à des Européens ont succombé malgré les soins dont ils étaient entourés. La même observation, du reste, s'applique aux chevaux. On se fait difficilement une idée du nombre formidable de bêtes de somme qui meurent en ces pays. En deux ans, un caravanier nous a dit avoir perdu, les uns après les autres, 7 ânes sur 7.

Boeufs. — Dans notre étude précédente, nous avons montré que c'était surtout *T. dimorphon* qui se rencontrait chez les bœufs autochtones de la Basse-Côte d'Ivoire. Les animaux que nous avons depuis rencontrés, en dehors de la race Baoulé, qui est identique à celle de la forêt, venaient de la région du Haut-Niger ou de la Haute-Guinée, soit originellement, ou bien étaient nés, dans le pays, de bœufs jadis importés des mêmes régions.

Tout d'abord il y a lieu de distinguer les bœufs dits à bosse, originaires soit du Macina, du Mossi ou encore de la région du Sahel (Maures).

Cette race, à puissante ossature, est excessivement sensible au virus du *T. Cazalboui*. Est-ce parce que son principal pays

d'origine, le Macina, est très contaminé ? Problème non encore résolu, mais il est bon de faire remarquer, de plus, que les voyages en gros troupeaux auxquels on soumet ces animaux sont vraiment extraordinaires. Il y a plus de 1,000 kilomètres de Bandiagara (Macina) à Tiassalé (Baoulé) ; trois mois sont nécessaires pour effectuer le trajet, soit une moyenne de 15 kilomètres par jour. Dans ces conditions, il n'y a pas lieu de s'étonner de trouver un pourcentage élevé d'animaux contaminés.

Entre Tiassalé et Bouaké, en deux mois et demi d'observation, nous avons vu 115 bœufs à bosse du Macina, du Minianka (San) ou du Mossi : 49, à peu près la moitié, étaient contaminés et porteurs de *T. Cazalboui*. Quelques exemplaires de bœufs de même race, mais venant de la région du Sahel, vus par nous dans la suite de notre voyage et servant comme bœufs porteurs à des marchands de kola, étaient également atteints de *T. Cazalboui* et quelques-uns présentaient conjointement un piroplasme ayant les caractères morphologiques de *Piroplasma mutans* (Theiler).

Une autre race, rencontrée au cours de notre voyage dans pays baoulé, appartenait au type autochtone de la Basse-Côte et nous la désignerons sous le nom de bœuf baoulé, simple variété de la race de la forêt. On en peut évaluer le nombre à plus de 6,000 individus. Ce sont des animaux très sauvages, d'aspect très beau, bien rablés, que les indigènes disent ne jamais être malades.

Les quelques exemplaires (une vingtaine) qu'il nous fut donné de voir n'étaient pas porteurs de trypanosomes. Cependant la race est sensible à *T. Cazalboui* expérimental, car une génisse que nous avons inoculée, est morte en 43 jours.

Enfin l'arrière-pays, c'est-à-dire la Haute-Côte, renferme surtout des bœufs sans bosse, à longues cornes, au pelage fauve, répandus depuis le Fouta-Djallon, qui est peut-être leur berceau d'origine, la Haute-Guinée, la région Bamako-Ségou. C'est le type que nous appellerons guinéen.

Dans la boucle du Niger et de la Volta, le pays Lobi, il existe une ou plusieurs variétés à cornes moins longues, à pelage varié, également sans bosse, plus petite que le type guinéen, mais comme ce dernier plus résistante aux divers trypanosomes.

Répandues dans la Haute-Côte d'Ivoire, ces deux ou trois variétés sont celles qu'on trouve dans tous les villages, où les indigènes ne sacrifient guère que ceux qui sont malades. Ce sont ces races qui sont en train de reconstituer le cheptel du pays. Il est hors de conteste qu'elles paient un tribut bien moins élevé aux trypanosomiases que les bœufs à bosse.

Sans entrer ici dans le détail, nous dirons seulement que le nombre total d'animaux de ces variétés sans bosse, vus par nous, dépasse actuellement 250. L'examen du sang de ces bœufs nous a permis de déceler 20 fois des trypanosomes. Quelques lames colorées et quelques inoculations à des animaux de laboratoire nous ont montré qu'on avait surtout à faire à *T. Cazalboui*, plus rarement à *T. dimorphon* et plus rarement encore à *T. Pecaudi*. Ajoutons que bon nombre de ces bovidés doivent guérir.

Les indications tirées du phénomène d'auto-agglutination, si précieuses chez le cheval et l'âne, ne nous paraissent pas avoir chez le bœuf, le mouton et la chèvre, la haute valeur que nous leur accordons chez les Equidés. L'auto-agglutination existe à peine. Le plaquage du sang se présente parfois et seulement à la période ultime de la maladie.

Moutons. — En Haute-Côte comme en Basse-Côte, ces animaux sont rarement contaminés ou du moins l'examen de leur sang révèle rarement l'existence de trypanosomes. Les races rencontrées viennent originairement du Soudan, à l'exception de la race autochtone du Baoulé qui est la même que celle de la Basse-Côte. Cependant, déjà des moutons de race à grandes pattes du Soudan ont fait leur apparition sur les marchés baoulés de Tiassalé-Toumodi.

A Bouaké, l'importation des diverses races est active, ainsi du reste que dans toute la Haute-Côte. Le mouton de race maure des bords du Sénégal ou du Sahel se rencontre parfois, en particulier sur les marchés à kolas.

La race baoulé nous a donné, sur 53 examens, 2 cas de contagion.

La race d'origine soudanaise, de petite taille, née sur place ou importée, nous a fourni, pour un total de 163 examens, 7 cas dus à *T. Cazalboui*.

La race maure à grandes pattes, provenant du Sahel en général, examinée un ou deux jours après son arrivée, nous a fourni, sur 52 animaux, 5 cas imputables à *T. dimorphon* (petites formes seules). Jusqu'ici nous n'avons pas rencontré *T. Pecaudi* chez le mouton.

Chèvres. — Déjà rares chez le mouton, les trypanosomiases se présentent plus rarement encore chez la chèvre. En Basse-Côte, nous n'avions trouvé qu'une seule fois *T. dimorphon* chez cet animal. En Haute-Côte, sur 123 chèvres soumises à notre examen, une seule fois nous avons pu déceler la présence d'un trypanosome, *T. Cazalboui*, vérifié du reste expérimentalement.

Porcs. — En pays musulman comme la Haute-Côte, il n'y a pas de porcs, sauf dans les centres où ils sont une ressource pour les Européens qui les y ont d'ailleurs importés.

Nous avons déjà signalé l'existence de *T. dimorphon* (petites formes seules) chez le porc de la Basse-Côte d'Ivoire.

A Bouaké, les nombreux porcs qu'on y trouve viennent originairement de la Basse-Côte. Ceux que nous avons examinés étaient nés sur place et n'avaient jamais quitté cette localité. Sur 20, 4 avaient des trypanosomes. Le seul d'entre eux, un jeune porcelet, que nous ayons suivi expérimentalement, renfermait *T. Pecaudi*, affection dont il a guéri du reste. Un porc neuf inoculé avec 10 c. c. de son sang ne s'est pas infecté. Nous n'avons pu nous rendre compte si le porcelet avait l'immunité, car il est mort accidentellement au moment où nous pensions l'inoculer à nouveau avec *T. Pecaudi*. Quoi qu'il en soit, les porcs sont excessivement résistants et ils ne meurent pas, sauf accidentellement. Nous sommes même amené à penser qu'ils jouent, vis-à-vis des animaux domestiques, le rôle de « réservoir à virus », dévolu surtout au gros gibier dans l'Afrique du Sud.

Le porc n'est pas sensible à *T. Cazalboui*. 10 c.c. de sang, renfermant de très nombreux trypanosomes, ne l'infectent pas. Nons avons renouvelé plusieurs fois cette expérience.

Chiens. — Depuis Toumodi (Baoulé), le nombre de chiens examinés dans tous les centres et villages importants s'élève à plus de 100 parmi lesquels 6 ont été trouvés porteurs de try-

panosomes. Autant le chien sédentaire de l'indigène nous a paru assez peu fréquemment atteint, autant le chien d'origine indigène et surtout ceux qui sont métissés, appartenant à des Européens qui se déplacent fréquemment, sont sensibles au virus. Les trypanosomes dont étaient porteurs 5 des chiens suivis expérimentalement appartenaient à deux types différents, peut-être à trois : *T. dimorphon* (à petites formes seules) et *T. Pecaudi*. Neus avons mentionné en Basse-Côte un trypanosome se rapprochant du type Togo-Nagana. Nous l'avons peut-être retrouvé à nouveau depuis. *T. Pecaudi* cause rapidement la mort de l'animal qui en est atteint. Chez un jeune chien, nous l'avons vu évoluer en moins de 10 jours.

Malgré le nombre très élevé de mammifères sauvages de toutes sortes qu'il nous a été donné d'examiner, nous n'avons pas rencontré de trypanosomes à l'examen du sang, sauf chez un Muridé : *Arvicanthus barbarus pulchellus*, espèce très voisine de *A. pumilio*, chez laquelle Dutton et Todd ont signalé *T. Lewisi*. Notre rongeur était porteur du même *Lewisi* ou d'une espèce voisine.

Recherches expérimentales. Transmissions de T. *Cazalboui* par *Glossina palpalis*

Le cadre de cette note ne nous permet pas de rapporter ici les diverses recherches expérimentales auxquelles nous nous sommes livré avec nos trois trypanosomiases. Elles ne font du reste que corroborer les résultats magistralement exposés par Laveran (*op. cit.*). Nous signalerons quelques points seulement qui nous paraissent devoir être mis en lumière actuellement.

T. Cazalboui. — Dans l'inoculation expérimentale de cette maladie, nous avons toujours constaté, chez le rat tout au moins, que l'inoculation de 4 à 5 c. c. et même moins d'un sang renfermant de nombreux trypanosomes, produisait, après une incubation variant de 5 à 8 jours, l'apparition de très rares trypanosomes dans le sang du rongeur ; que ces trypanosomes se montraient deux ou trois jours pour disparaître ensuite d'une façon définitive. Une réinoculation de 3 à 4 c. c. de sang virulent ne reproduisait pas l'apparition de trypanosomes. Ces faits ne se sont jamais produits avec l'inoculation du virus au singe, au chien, au porc, que nous avons souvent pratiquée pour établir le diagnostic différentiel de cette maladie.

D' près Laveran, l'examen histologique du sang des bovidés, ovidés ou caprins, atteints de *T. Cazalboui*, est toujours négatif. Nos expériences, par contre, nous ont montré que les trypanosomes chez la chèvre et le mouton se montraient par poussées de 2 à 4 jours pour disparaître pendant 5 à 6 jours, affectant une sorte de périodicité. La durée de la maladie chez la chèvre, toujours mortelle, a été de 2 mois à 2 mois et demi et l'incubation de 8 à 10 jours, quelquefois plus.

Il était intéressant de rechercher si les stomoxes seuls étaient susceptibles de convoyer *T. Cazalboui*. L'expérience de Bouffard, irrécusable au point de vue expérimental, laisse cependant un point dans l'ombre. Il ne nous dit pas s'il y a multiplication des flagellés dans le tube digestif des stomoxes, puis inoculation de ces flagellés de culture 12 ou 24 heures après la piqûre initiale. Les stomoxes sont peut-être seulement des transmetteurs directs. Quoi qu'il en soit et n'ayant pas poussé nos investigations de ce côté, nous avons pensé à renouveler avec *T. Cazalboui* nos expériences faites avec *T. dimorphon*. Comme, dans les pays que nous avons traversés, les tsétsés sont excesivement communes, comme les stomoxes du reste, il était naturel d'expérimenter avec les glossines, malgré l'opinion de Cazalbou que les tsétsés devaient être mises hors de cause dans la propagation de *T. Cazalboui*. Deux expériences sur deux ont pleinement réussi.

En voici le résumé :

EXPÉRIENCE I.

Un cabri est inoculé avec le sang d'une chèvre à infection à *T. Cazalboui* (contrôlé par inoculation aux singe, chien et porc) et contracte la maladie. Trois mouches (*Glossina palpalis*), provenant d'un lot de 10 (les 7 restantes, examinées, n'avaient pas de trypanosomes « sauvages »), sont mises à piquer le cabri malade et dont le sang renferme des trypanosomes. Elles ne sont ensuite portées qu'après intervalles de 24 heures ou plus sur un très jeune cabri, neuf, âgé de 8 à 10 jours et dont le sang ne renferme pas de trypanosomes, pas plus que le sang de sa mère du reste (examiné pendant les 8 à 10 jours qui précèdent l'opération). D'après nos notes, les trypanosomes du cabri malade ont été assez nombreux ou non rares au moment de la piqûre des mouches.

Le 29 juillet, 3 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 30, 1 mouche est morte ; elle est examinée, mais tardivement et ne présente pas de trypanosomes dans la trompe et le tube digestif ; les 2 autres piquent le cabri neuf. (24 heures se sont écoulées depuis les piqûres de la veille.)

Le 31 juillet, les 2 mouches sont remises sur le cabri contaminé et piquent.
Le 1er août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).
Le 2 août, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.
Le 3 août, les mouches piquent le cabri neuf (24 h.).
Les 4 et 5 août, les mouches ne sont pas mises à piquer.
Le 6 août, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.
Le 7 août, les mouches ne sont pas mises à piquer.
Le 8 août, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.
Le 9 août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).
Les 10, 11 et 12 août, les mouches ne piquent pas.
Le 13, les deux mouches piquent le cabri contaminé.
Le 14 août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).
Les 15, 16, 17, 18 août, les mouches ne piquent pas; elles meurent sans sans être examinées.

Le 19 août, le cabri, qui a été examiné tous les jours, renferme des trypanosomes dans son sang, soit 19 jours après la première piqûre. L'examen en lames colorées montre qu'on a affaire à *T. Cazalboui*, morphologiquement facile à reconnaître.

Le cabri, suivi chaque jour, présente des trypanosomes presque tous les jours jusqu'au 30 août, date de sa mort.

Pendant toute la durée de l'expérience, le cabri a été tenu dans une cage grillagée.

EXPÉRIENCE II.

Les mêmes précautions pour le cabri neuf sont prises. — Le virus provient de 2 sources : le cabri inoculé de l'expérience précédente et le jeune cabri qui a contracté la maladie par des piqûres de mouches. — Les mouches sont mises tantôt sur l'un, tantôt sur l'autre, suivant le nombre des trypanosomes du sang virulent.

Les trypanosomes, dans le sang des animaux contaminés, ont été très nombreux, nombreux ou rares au moment de la piqûre des mouches. Les mouches ont été nourries pendant 3 jours sur un cynocéphale sphinx, avant le début de l'expérience.

Le 19 août, 4 mouches piquent les chèvres malades.
Le 20 août, 2 des mouches piquent le cabri neuf (intervalle 12 h.).
Le 21 août, 2 mouches piquent les chèvres contaminées.
Le 22 août, 2 mouches piquent le cabri neuf (12 h.).
Le 23 août, 3 mouches piquent les chèvres contaminées.
Le 24 août, 1 mouche pique le cabri neuf (24 h.), 1 (28 h.).
Le 25 août, 1 mouche pique les chèvres contaminées.
Le 26 août, 1 mouche (la précédente) pique le cabri neuf (28 h.).
Le 26 août, également 1 mouche (ancienne) et 1 neuve (depuis 10 jours nourrie sur *Cynocephalus sphinx*) piquent un cabri contaminé.
Le 27 août, les 2 mouches, mises sur le cabri contaminé la veille, piquent le cabri neuf (30 h.).
Le 28 août, 2 mouches piquent un cabri contaminé.

Le 29 août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 30 août, 3 mouches piquent un cabri contaminé.

Le 31 août, 2 des mouches piquent le cabri neuf (24 h.), la troisième mouche (38 h.).

Le 1er septembre, l'une des mouches est morte. Son intestin renferme d'assez nombreux trypanosomes très vivants, à flagelle très net, à corps épaissi, ramassé, à mouvements encore rapides; l'étude sera faite ultérieurement. — Les autres mouches ne sont pas mises à piquer.

Le 2 septembre, 2 mouches piquent un cabri contaminé.

Le 3 septembre, elles piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 4 septembre, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 5 septembre, elles piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 6 septembre, apparition des trypanosomes dans le sang du cabri neuf. Ce sont des *T. Cazalboui*.

18 jours se sont écoulés depuis la première piqûre. Actuellement le cabri est encore vivant et montre des trypanosomes dans son sang.

Nous ne parlerons pas de *T. Pecaudi*. Nos études en cours ne sont pas achevées sur ce trypanosome.

Quant au *T. dimorphon*, nous poursuivons également quelques recherches sur ce trypanosome qui feront l'objet d'une note ultérieure.

Quelques mots sur nos essais de thérapeutique

Nous avons essayé systématiquement sur *T. dimorphon*, naturel ou expérimental, les couleurs bleues Cl et Ph de Mesnil-Nicolle et le trypanroth d'Ehrlich (marque Grübler), puis l'atoxyl. Sauf le trypanroth [1], dans l'infection naturelle chez le cheval et chez le chien, les autres couleurs n'ont même pas fait disparaître les trypanosomes le jour de l'injection, de même l'atoxyl à la dose de 0,50 centigrammes (les doses étaient probablement trop faibles). Avec le trypanroth, voici nos expériences :

Un *cheval* (le nôtre) s'infecte naturellement, et du 16 juin au 2 juillet montre des trypanosomes assez rares qui, inoculés au rat, l'infectent. Le 2 juillet, on injecte au cheval 50 centigrammes de trypanroth dans 50 c. c. d'eau. Le 3 on ne trouve pas de trypanosomes, le 5, le 8, pas de trypanosomes, le sang est toujours plaqué et l'agglutination très marquée; le 13, l'agglutination a diminué, plus de plaquage; le 22, elle est de moins en moins marquée et toujours pas de trypanosomes. Le 29, il n'y a plus d'agglutination, les globules sont bien ronds et non déformés. L'animal est en bel état, il

1. Ce qui est conforme aux résultats de Wenyon sur l'infection à *dimorphon* des souris. Nous nous proposons d'expérimenter avec la couleur α de Mesnil-Nicolle que Wenyon a reconnue être la meilleure pour cette infection des souris.

est plus vif et ne baisse pas la tête. Il n'a plus de fièvre. Depuis cette époque, des examens fréquents ne nous ont pas montré de trypanosomes.

Un *chien* a été traité dans les mêmes conditions. Le premier jour, nous lui injectons 20 centigrammes d'atoxyl qui ne font pas disparaître les trypanosomes vus le lendemain à l'examen. Nous injectons alors 30 centigrammes de trypanroth (solution à 1/40). La température, qui le matin était à 38, tombe à 37°,7, et le lendemain à 37°. Il n'y a plus de trypanosomes ni de fièvre jusqu'au 9 au soir où nous apercevons un parasite dans toute la lame microscopique. Malheureusement depuis le début de sa maladie, le chien a refusé toute nourriture et nos essais pour le nourrir artificiellement sont vains. L'animal, d'origine européenne, succombe.

Mouches piquantes. Maladie du sommeil

Pour terminer, nous dirons quelques mots des mouches piquantes rencontrées depuis Toumodi jusqu'à Kong. Nous avons signalé déjà la présence à Toumodi de *Glossina morsitans*. On y trouve aussi *G. palpalis* et *G. fusca*. A Bouaké : *G. palpalis* et *fusca*. Aux environs de Mankono, le long d'un affluent du Bandama, le Béré, nous avons rencontré pour la première fois *G. tachinoides*. Les centres Séguéla, Touba, Odienné, Koroko, Tombougou, présentent *G. palpalis*, *morsitans*, *tachinoïdes*. Nous n'avons pas revu *G. pallicera*. Nos Stomoxes et nos Tabanides sont à l'étude. Ces derniers sont moins fréquents qu'en Basse-Côte; mais les *Hæmatopota* sont communs en hivernage.

Après des recherches nombreuses, facilitées grandement par l'Administration, nous avons fini par trouver des cas de maladie du sommeil dans le haut Baoulé à Bouaké (inoculation positive au singe). Puis successivement un cas (peut-être deux) à Marabadiassa; à Touba, deux cas; à Koro, un et peut-être deux cas; à Odienné, un cas (trypanosomes à l'examen du sang). A Koroko, 7 à 8 indigènes sont actuellement l'objet de nos recherches. Nous y reviendrons dans une étude d'ensemble. Il nous paraissait nécessaire de signaler ici l'existence de la trypanosomiase humaine en Haute-Côte d'Ivoire.

Koroko, le 20 septembre 1907.

Contribution à l'étude des Opsonines

Par J.-G. SLEESWIJK (LEYDE).

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Les recherches de Metchnikoff et de son école ont mis en évidence l'importance de la phagocytose dans l'immunité naturelle et acquise. Or, la phagocytose, étudiée comme phénomène général dans la pathologie comparée, est un processus très compliqué. Son analyse, comme celle de tous les phénomènes biologiques, soulève beaucoup de difficultés, parce qu'on a affaire ici à trois facteurs variables dans leurs qualités : le phagocyte, la bactérie (resp. un autre corps étranger) et le milieu, qui réagissent l'un sur l'autre.

Depuis que Wright c. s. a démontré que le sérum frais prépare les bactéries à être phagocytées, grâce à des substances spécifiques auxquelles il a donné le nom d' « opsonines », les phénomènes de la phagocytose semblent être étudiés d'une façon encore plus précise qu'auparavant.

Je sais qu'il y a des bactériologistes qui doutent de l'existence réelle des opsonines. Ceux-ci pensent qu'il n'est pas nécessaire d'attribuer le pouvoir dit opsonique à des substances nouvelles et inconnues jusqu'ici, mais que les prétendues opsonines sont identiques aux sensibilisatrices, ou au moins qu'elles représentent une qualité spéciale de ces substances.

Je ne veux pas ici faire de théorie, mais me borner à publier quelques faits ; je veux seulement montrer qu'on peut très bien travailler avec la conception du pouvoir opsonique, que l'introduction des opsonines dans l'étude de l'immunité a donné jusqu'ici de bons résultats, et éclairci nos conceptions sur le processus de la phagocytose. C'est pourquoi, dans les lignes suivantes, j'emploierai le terme d'opsonines.

Etant donnée l'avidité des phagocytes de la grenouille pour les bacilles du charbon, je me suis posé la question suivante : y a-t-il une substance intervenant dans l'action des globules blancs sur les bactéridies, et, dans ce cas, cette substance est-elle contenue dans le sérum?

Tout d'abord je remarquai qu'on peut priver les leucocytes

de grenouille de leur pouvoir phagocytaire par le lavage par centrifugation, soit avec l'eau physiologique ordinaire, soit avec l'humeur aqueuse de bœuf.

Les expériences sont faites *in vitro*, au moyen de gouttes pendantes. J'ai rencontré assez de difficultés pour avoir une quantité de globules blancs suffisante pour ces expériences. Dans la méthode de Wright, on opère sur des globules blancs contenus dans le sang. Je me suis servi d'exsudats de façon à éviter la présence des globules rouges et à me procurer un grand nombre de globules blancs.

Le suc du sac lymphatique ne renfermant pas assez de leucocytes, j'ai obtenu un exsudat riche et ne coagulant pas trop vite, en injectant, dans la cavité péritonéale de mes grenouilles, quelques centimètres cubes d'un mélange de parties égales de bouillon et d'eau physiologique. Après trois ou quatre heures, on retire l'exsudat au moyen d'une pipette à pointe très fine, qui ne fait presque pas de plaie à la paroi abdominale [1], et on transporte le liquide dans un tube. Après séparation du caillot, l'exsudat est centrifugé, le liquide est retiré; on ajoute de l'eau physiologique au dépôt, on mélange et on centrifuge à nouveau. On peut répéter plusieurs fois de suite les mêmes opérations. Un tel lavage, pratiqué deux fois pendant cinq minutes dans la centrifuge électrique, prive les leucocytes de grenouille de leur pouvoir phagocytaire envers les bactéries du charbon. La goutte pendante était composée d'une anse d'une émulsion de bactéridies dans du bouillon ou dans de l'eau physiologique, et d'une goutte d'une émulsion de leucocytes, avec ou sans addition d'une petite goutte de sérum. Dans toutes les expériences, j'ai préparé, pour le contrôle, une goutte pendante avec les bactéries et les mêmes leucocytes *non* lavés.

Pour me rendre compte de l'influence du lavage sur les leucocytes d'un autre animal, je me suis servi des globules blancs contenus dans l'exsudat abdominal provoqué chez les cobayes par l'injection de certains produits stérilisés. Conformément aux résultats de M. Löhlein [2], j'ai trouvé que le lavage même cinq fois répété ne diminue pas sensiblement la voracité

1. Ainsi il n'est pas nécessaire de tuer la grenouille, et on peut se servir plusieurs fois des mêmes animaux, après un intervalle de quelques jours.

2. Ces *Annales*, 1905, n° 10, page 647.

des phagocytes envers les bactéries charbonneuses. Je reviendrai plus loin sur cette différence et cette contradiction apparente entre les qualités des leucocytes lavés de grenouille et de cobaye.

Quand on ajoute au mélange indifférent (leucocytes de grenouille lavés, bactéries, eau physiologique) une petite quantité de sérum de grenouille frais, les phagocytes sont réactivés, et commencent tout de suite à englober les bactéries. Ces dernières, uniformément répandues dans les préparations avec l'eau physiologique, sont agglutinées aussitôt par le sérum frais. A côté des phagocytes isolés en train d'englober des bactéries ou des filaments charbonneux, on voit des amas de bacilles au milieu desquels se trouvent des globules blancs en train d'englober des microbes. Ces préparations sont tout à fait semblables à celles qu'on obtient avec les leucocytes non lavés.

L'addition du sérum frais au mélange indifférent provoque donc deux réactions distinctes : la phagocytose et l'agglutination. En langue bactériologique, ceci veut dire qu'il y a dans le sérum frais de grenouille une opsonine et une agglutinine pour les bactéries du charbon.

Il reste maintenant à prouver expérimentalement que ces deux substances sont vraiment différentes l'une de l'autre, et à chercher si cette opsonine peut se fixer sur les bactéries, c'est-à-dire peut vraiment préparer les bactéries à être englobées et former ainsi le trait d'union entre les microbes et les phagocytes.

Me guidant sur nos connaissances actuelles sur la thermolabilité de ce genre de substances, j'ai chauffé à 55°-60° C., environ pendant une demi-heure, le sérum frais, et j'ai trouvé qu'il était alors privé de son pouvoir opsonique. En effet, l'addition d'un tel sérum chauffé au mélange indifférent ne provoque pas la phagocytose ou détermine tout au plus une phagocytose très faible. Ceci dépend du mode de chauffage : un court chauffage à une haute température a le même effet qu'un chauffage plus prolongé à une température plus basse, ce qui prouve qu'on a affaire à une destruction quantitative de la substance en question.

Le chauffage à 55°-60° ne prive pas le sérum de son pouvoir

agglutinatif : on trouve dans les gouttes pendantes les amas de bactéridies, mais les phagocytes y restent immobiles ou émettent tout au plus quelques pseudopodes, sans pourtant s'emparer d'un seul microbe.

L'agglutinine à son tour n'est détruite qu'à la température de 70°. Un sérum chauffé pendant une demi-heure à 70° est tout à fait indifférent et pour les microbes et pour les leucocytes ; quant à son action biologique, il se comporte comme de l'eau physiologique.

En observant le rôle du sérum dans la phagocytose, et en attribuant ce rôle à une substance spéciale qui établit une relation entre le phagocyte et le microbe, on doit se demander si cette opsonine porte son action sur tous les deux également, ou bien si elle a une affinité spéciale pour un des deux. Prépare-t-elle le microbe ou bien stimule-t-elle le phagocyte ? Pour étudier cette question, il est nécessaire de contrôler l'action du sérum sur chacun des facteurs séparément. Il va sans dire qu'en traitant les leucocytes, après le lavage, avec du sérum frais, on leur restitue justement ce que le lavage leur a ôté. Bien que, dans le phénomène de la phagocytose, le phagocyte joue à nos yeux le rôle actif, il est évident que le corps étranger par sa présence, c'est-à-dire par ses qualités physiques ou chimiques, doit attirer le phagocyte : il est le *primum movens* de tout le processus. Il était donc à prévoir qu'on pourrait, par le traitement au sérum frais, préparer le microbe pour l'englobement, tandis que, sans ce traitement, il reste indifférent pour le phagocyte lavé.

Pour cela, j'ai bien mélangé et puis centrifugé une émulsion de bactéridies avec du sérum frais; après cela, j'ai retiré le liquide à l'aide d'une pipette, puis ajouté au dépôt de l'eau physiologique, mélangé et centrifugé à nouveau. Après l'enlèvement du liquide, les microbes, portés dans de l'eau physiologique avec des leucocytes bien lavés, devenaient une proie facile pour les phagocytes. Donc, par ce procédé, la fixation de l'opsonine sur le microbe est démontrée.

J'ai fait des expériences comparatives, dans lesquelles j'ai remplacé les bacilles virulents du charbon par des bacilles du premier vaccin, des bacilles morts (une culture en bouillon portée à 100°) et par des grains de carmin. Ces trois sortes de

corpuscules sont englobés plus ou moins vite par les phagocytes non lavés, mais la fixation de l'opsonine se fait sur le premier vaccin et même sur les bacilles morts, mais non sur la poudre de carmin. Je donne ici un extrait des protocoles de mes expériences, que M. le docteur Levaditi a bien voulu contrôler et vérifier :

I. Leucocytes non lavés. Sérum. Bactéridies.	Agglutination. Phagocytose forte.
II. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Eau physiologique.	Bactéries uniformément répandues, pas d'agglutination, phagocytose nulle, leucocytes sans prolongements protoplasmiques.
III. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum frais.	Agglutination forte. Tous les leucocytes présents dans la préparation ont englobé des bactéries.
IV. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum chauffé à 58° C.	Agglutination. Leucocytes ronds, pas de phagocytose.
V. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum chauffé à 70°.	Pas d'agglutination. Phagocytose nulle.

La séparation de l'agglutinine et de l'opsonine par la température est frappante (IV et V).

VI. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum frais. mélangé et centrifugé d'avance avec des bactéridies.	Agglutination. Phagocytose assez forte.
VII. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies mélangées et centrifugées d'avance avec le sérum frais de VI, et lavées après cela une fois avec de l'eau physiologique. Eau physiologique.	Gros amas de bactéridies. Agglutination forte. Dans ces amas des leucocytes avec des prolongements amoeboïdes, phagocytose manifeste.

Des expériences VI et VII, il résulte que l'agglutinine aussi bien que l'opsonine se sont fixées sur les bactéries, et que la fixation a été partielle. La fixation étant quantitative, la quantité de bactéries n'était pas suffisante pour fixer toute la

substance du sérum de VI, de sorte qu'il en restait assez pour qu'il se produisît aussi dans VI agglutination et phagocytose. La différence entre II et VII est frappante.

On pourrait encore faire l'objection que le leucocyte perd sa vitalité par des lésions produites par les lavages répétés, et que c'est pour cela qu'il ne peut pas englober les bactéries (II). La réponse se trouve dans III, où les leucocytes ont subi le même traitement et sont ranimés par l'opsonine du sérum frais dont le lavage les avait privés, et deviennent aussi vifs que les leucocytes frais.

Quant au pouvoir opsonique d'autres humeurs du corps, j'ai étudié encore la lymphe du sac lymphatique et l'exsudat péritonéal. Je les ai privés des globules blancs et d'autres corpuscules par la centrifugation, et j'ai vu qu'ils peuvent ranimer les leucocytes lavés tout comme le sérum frais. Il est intéressant de constater que ces trois humeurs, le sérum, la lymphe et l'exsudat péritonéal, qui contiennent des globules blancs, présentent un pouvoir opsonique plus ou moins fort. Néanmoins, ce fait, à mon avis, ne nous donne pas encore le droit d'en conclure que ce sont toujours les leucocytes seuls qui produisent l'opsonine. Car les leucocytes de grenouille, lavés et mis dans un milieu indifférent (eau physiologique) ne semblent pas posséder le pouvoir de produire d'eux-mêmes l'opsonine, car on peut attendre autant qu'on veut : malgré la présence de bactéries, la phagocytose ne se produit pas.

Je veux revenir ici sur cette contradiction apparente que les leucocytes de cobaye, — animal très sensible au charbon, — après cinq lavages successifs et plus, englobent facilement les bactéridies, même à la température de la chambre, tandis que les leucocytes de grenouille — animal réfractaire au charbon — n'englobent pas les bactéridies après un lavage deux fois répété. J'ai démontré déjà que chez les leucocytes de grenouille il n'y a pas d'affaiblissement par le lavage ; de l'autre côté, on a le droit de supposer qu'après lavage répété cinq fois et plus, les leucocytes de cobaye sont bien privés de l'opsonine qui pourrait être attachée à leur surface. Si on voulait attribuer aux leucocytes le pouvoir de produire l'opsonine, on pourrait dire que les leucocytes lavés de cobaye produisent cette substance d'eux-mêmes (« phagocytose spontanée »), tandis

que dans les préparations de leucocytes lavés de grenouille, le sérum ajouté exerce sur les leucocytes l'excitation nécessaire pour produire l'opsonine, ou bien que cette substance (d'une provenance inconnue) est contenue dans le sérum ajouté.

J'ai trouvé d'ailleurs que le sérum de grenouille est toxique pour les globules blancs du cobaye et que le sérum du cobaye arrête les mouvements des leucocytes de la grenouille.

Quand on veut se représenter la constitution et le mode d'action de l'opsonine en général, il me semble — aussi d'après mes propres recherches — qu'on peut très bien se servir du langage figuré de Ehrlich, et dire : L'opsonine est une substance à deux groupes ; l'un, le groupe *bactériophile*, doué d'une affinité spécifique, se fixe sur le microbe, et, par cette fixation même, l'autre, le groupe *phagocytophile*, est mis en action : le phagocyte est attiré et peut faire son œuvre.

En dehors de toute théorie, les résultats de mes expériences me donnent le droit de formuler les conclusions suivantes :

1° Il y a dans le sérum de grenouille :

a) Une substance qui prépare les bactéries du charbon pour la phagocytose par les phagocytes de grenouille ;

b) Une substance qui fait agglutiner les bactéries du charbon ;

2° La substance *a* (l'opsonine) est détruite par le chauffage à 56°.

L'agglutinine *b* ne se détruit qu'à 70° ;

3° L'opsonine agit sur les bactéries. Elle se fixe également sur les bacilles virulents, sur les bacilles du premier vaccin et les bacilles morts, mais pas sur un corps indifférent comme la poudre de carmin ;

4° La lymphe du sac lymphatique et l'exsudat péritonéal ont un pouvoir opsonique comme le sérum ;

5° On peut priver les phagocytes de grenouille de leur pouvoir phagocytaire en les lavant deux fois pendant cinq minutes, soit avec de l'eau physiologique ordinaire, soit avec l'humeur aqueuse de bœuf. Ils peuvent être ranimés par le sérum frais de grenouille, tandis que le sérum chauffé les laisse indifférents,

Nota. De nouvelles recherches entreprises par moi au laboratoire de M. Bordet confirment les constatations de MM. Levaditi et Inmann et Neufeld et Hüne, concernant l'identité de l'opsonine normale et du complément.

En terminant, j'ai le devoir bien agréable d'exprimer ma vive reconnaissance à M. le professeur Metchnikoff pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, et à M. le docteur Levaditi pour ses conseils techniques fort appréciés.

Leyde, 1906.

INFLUENCE DU FERMENT LACTIQUE SUR LA FLORE DES EXCRÉMENTS DES SOURIS

PAR J. BELONOVSKY

I

Les bactéries qui ont servi à notre étude ont été obtenues pour la première fois par MM. Cohendy et Michelson, au laboratoire de M. Metchnikoff, et M. Grigoroff, au laboratoire de M. Massol à Genève; elles ont été extraites d'une sorte spéciale de lait caillé en usage en Bulgarie et en Roumanie et connue sous le nom de « Yougourt » [1].

Ce qui les distingue des autres bactéries lactiques, c'est la grande quantité d'acide lactique qu'elles préparent aux dépens du sucre de lait : tandis que les microbes ordinaires ne fournissent pas plus de 1 0/0 d'acide, les bactéries bulgares en donnent jusqu'à 3,23 0/0 [2], ce qui rend très aigre le lait coagulé sous leur action. De plus, ces bactéries ont peu d'action sur la caséine et les matières grasses du lait et produisent une proportion insignifiante de substances secondaires (acide succrique, acide acétique, etc.) [3].

Par leurs caractères extérieurs et par leur distribution dans les cultures, ces bactéries rappellent de près le vibrion septique de Pasteur : mêmes bâtonnets minces et nettement coupés, se réunissant en filament de longueur moyenne. Sous leur action, le lait se coagule d'une façon régulière, sans exsudation de sérum. Si l'on ajoute au lait un peu de teinture de tournesol, ces bactéries le rendent d'abord uniformément rosé; puis, lorsque la coagulation est achevée, sa couche supérieure, d'un demi-centimètre d'épaisseur à peu près, devient d'un rose *éclatant*, le reste de la masse étant d'un blanc jaunâtre. Avec le temps, la couche rose s'étend de plus en plus vers le bas; au bout de 1 mois 1/2 à 2 mois, le lait tout entier prend cette teinte. Si

1. La culture dont nous nous sommes servis nous était fournie directement par le Dr Cohendy.
2. M. COHENDY, Description d'un ferment lactique, etc..., *Comptes rendus de la Société de Biologie*.
3. MM. BERTRAND et WEISWEILLER, *Ann. Inst. Pasteur*, 1906, n° 11.

on l'expose à une lumière très vive, il blanchit de nouveau, de bas en haut.

Les milieux dépourvus de sucre ne permettent pas le développement de ces bactéries. Un bouillon de sucre à 2 0/0 ne peut donner lieu qu'à un développement très faible; le bouillon reste liquide et c'est seulement au fond de l'éprouvette qu'on voit se former un léger précipité. Les bactéries développées en bouillon sont un peu plus volumineuses, légèrement gonflées et moins nettement délimitées que dans le lait. Semées sur de l'agar sucré, elles se développent très mal : les colonies apparaissent les 4e et 5e jour et ne mesurent pas plus d'un millimètre de diamètre; elles présentent un aspect très caractéristique : des lignes sinueuses, serpentiformes rayonnant autour d'un centre.

Ces bactéries se colorent très facilement par toutes les couleurs d'aniline, ainsi qu'en se servant de la méthode de Gram; quelques individus, probablement morts, restent incolores. Le lait dans lequel on a semé une culture se coagule, à la température de 35 à 37°, au bout de 16 à 18 heures. Cette différence dans le temps de coagulation tient à deux causes : à l'état plus ou moins frais de la culture qui a servi à l'ensemencement et à la répétition plus ou moins fréquente des transplantations. Une culture vieille ou ayant été trop rarement transplantée coagule plus lentement. Si l'on a soin de transplanter les cultures tous les 3-4 jours, la coagulation complète a lieu au bout de 24 heures.

La multiplication des bactéries s'arrête bientôt; après la coagulation, elles perdent peu à peu leur vitalité; ensemencées à nouveau elles ne peuvent plus provoquer la coagulation que dans un délai plus long. Nos observations ont montré qu'à la température du laboratoire elles périssent complètement au bout de 19 jours. Le 18e jour il leur faut 6 jours pour faire coaguler le lait. Les bactéries chauffées à 55° pendant 2 heures ne coagulent le lait que très lentement; elles sont tuées par un chauffage de 4 heures à la même température.

II

Le professeur Metchnikoff nous a proposé d'étudier l'influence de ces bactéries sur la flore intestinale des animaux en nous conseillant de prendre des souris comme objet de nos

observations, ces animaux devenant adultes, se reproduisant et vieillissant en un laps de temps très court.

En examinant sous le microscope les excrétions normales des souris, on voit le champ visuel occupé principalement par des cocco-bacilles et des coccus de différentes dimensions; par place on trouve des microbes, probablement semblables, étroitement serrés les uns contre les autres, comme cela se voit dans les colonies sur agar-agar. Les formes bacillaires ne tiennent là qu'une place peu importante ; parmi elles on trouve des baciles fins, nettement coupés, quelquefois légèrement recourbés. Puis, en petit nombre également, d'autres bâtonnets de très grandes dimensions, gros et longs (près de 25 μ), tantôt tout à fait rectilignes, tantôt légèrement recourbés. Leur épaisseur est parfois inégale, ce qui leur donne un aspect irrégulier ; certaines sont moins grosses, aux extrémités pointues, généralement un peu recourbées, de dimensions variables depuis les plus petites jusqu'aux plus grosses, qui peuvent atteindre les proportions des grandes bactéries que je viens de décrire; elles sont quelquefois très nombreuses.

Cet aspect, qui peut varier dans les détails, est quelquefois modifié par la présence d'autres éléments : des levures de différentes grandeurs, grosses et ovales (se colorant très vivement), des bactéries se colorant d'une façon bipolaire comme les bacilles de la peste, d'autres bactéries portant des spores à l'extrémité ou plus près du milieu. Souvent enfin, on trouve, surtout chez les souris agées, de courts spirochètes présentant 2 ou 3 spores.

Un peu différente est la flore des jeunes souris pendant les 2 à 3 semaines où elles se nourrissent du lait maternel. Elle consiste principalement en bacilles minces et égaux, quelquefois légèrement recourbés. Ce sont eux qui dominent pendant les 3 ou 4 premiers jours de la vie. Plus tard, beaucoup d'autres microbes apparaissent, mais les bacilles n'en dominent pas moins. Lorsque les petites souris commencent à chercher elles-mêmes leur nourriture, cette flore fait rapidement et brusquement place à celle décrite plus haut.

En colorant par la méthode de Gram les excréments des souris adultes, on voit qu'une petite portion seulement des bactéries prennent la coloration : ce sont les gros bacilles

décrits plus haut, les bacilles fins aux extrémités pointues, les bactéries sporifères, une partie des coccus et des cocco-bacilles et une partie des levures. Au contraire, dans les excréments de souris nourries au sein, la plupart des bactéries se laissent colorer.

III

Voici comment nous avons organisé nos expériences. Dans des récipients en verre on a placé deux par deux (un mâle et une femelle), des souris qu'on a soumis à un régime spécial. Les expériences ayant duré plus de 10 mois, les animaux se sont reproduits plusieurs fois, leurs petits ont grandi et, à leur tour, ont donné une progéniture. De cette façon on a pu les observer de leur naissance jusqu'à l'âge adulte.

Dans d'autres récipients, il y avait de vieilles souris, âgées de 3 à 4 ans, que nous devions à l'obligeance de M. le docteur Borrel. Comme nourriture, les unes recevaient des graines de froment stérilisées par la chaleur à sec et additionnées d'une culture de 1 à 2 jours du microbe bulgare; pour les autres, on ajoutait aux graines stérilisées les substances suivantes : 1° du lait stérilisé; 2° de l'eau stérilisée; 3° du lait coagulé par l'action de l'acide lactique, en quantité égale à celle qui se trouvait dans la culture de la bactérie bulgare [1]; 4° des cultures de bactérie bulgare tuée par l'action d'une température de 56° pendant 4 heures; 5° une culture de 2 jours sur bouillon de *Bac. prodigiosus*; 6° une culture de 2 jours de *Bac. pyocyaneus*.

Les conditions d'existence de nos souris étaient autant que possible identiques : les récipients étaient à peu près de même grandeur, les souris placées en nombre à peu près égal, la quantité de nourriture et des substances ajoutées, la même.

IV

12 jours après le commencement des expériences, nous avons pu constater une différence notable entre les excréments des souris ayant absorbé le ferment et les animaux de contrôle soumis au régime ordinaire. Tandis qu'après avoir semé dans du bouillon les excréments de ces derniers, on obtenait, au bout

1. La quantité moyenne était de 1, 6 0/0. Dans la suite on a remplacé le lait coagulé par l'acide lactique, par la culture stérilisée du bacille bulgare.

de 23 heures, un liquide très trouble, d'odeur forte et désagréable, chez les premiers l'odeur était moindre et le bouillon moins trouble. Sur du bouillon sucré on constatait un dégagement de gaz moindre. En les semant sur de l'agar sucré, en profondeur, on trouvait un nombre de bactéries moindre et un dégagement de bulles de gaz moins intense. Vers le 20e jour après l'ensemencement, suivant cette méthode, le dégagement de gaz s'arrêtait complètement. Au bout de 33 jours on a constaté que les cultures faites sur du bouillon, à l'aide d'une émulsion des excréments des souris ayant absorbé le ferment, restaient limpides et ne germaient que 2 ou 4 jours plus tard. Au contraire, dans les expériences de contrôle, les cultures présentaient un trouble très abondant déjà au bout de 24 heures.

Les phénomènes sont restés à peu près les mêmes par la suite. Il arrivait cependant que, sans cause apparente, le dégagement de gaz reprenait et les cultures commençaient à ressembler davantage à celles de contrôle, bien que, même dans ces cas, il y ait toujours eu une différence notable entre les souris de contrôle et les souris ayant absorbé du ferment.

L'examen microscopique des excréments de ces dernières revèle une augmentation considérable du nombre de bactéries se colorant par la méthode de Gram : tandis que dans les excréments normaux la coloration ne porte que sur 1/10 de toutes les bactéries, dans ceux des souris ayant reçu du ferment, les 8/10 des bactéries prennent la coloration. On observe également une diminution des coccus et des cocco-bacilles et une prédominance des formes bacillaires.

Les mêmes modifications peuvent être constatées chez les jeunes souris allaitées par leur mère ; elles sont même plus nettes et se manifestent plutôt. Les bactéries du ferment qui se trouvent dans l'intestin de ces souris proviennent probablement de la cavité buccale ou des mamelles de la mère[1]; peut-être aussi le lait de la mère subit-il quelques modifications. Jusqu'au 4e jour après la naissance, aucune différence n'existe entre la flore des excréments des petits dont les mères ont absorbé le ferment et les petits animaux de contrôle. Mais à partir de ce moment, où, dans les conditions normales, le nombre

1. Une observation dans ce sens a été faite par le Dr Obrastzoff. *Contribution à la question de l'extension des bactéries acidophiles.* Thèse, St-Pétersbourg 1904, p. 131.)

de bactéries commence à augmenter, une différence très nette s'établit : chez les petits des animaux à ferment ce nombre, au lieu d'augmenter, diminue au contraire; il reste peu considérable jusqu'au moment où les jeunes souris commencent à se nourrir de graines, après quoi il augmente brusquement, avec prédominance de formes bacillaires prenant la coloration de Gram.

Chez les souris âgées, toutes ces modifications dans la flore sont moins nettes et s'établissent beaucoup plus lentement.

Avant d'aborder l'étude détaillée de ces modifications dans la flore des excréments, décrivons en quelques mots sa composition normale, autant que nous avons pu l'établir à l'aide de cultures aérobies et anaérobies.

La plupart des colonies développées dans les conditions décrites plus haut appartiennent aux bacilles intestinaux typiques (*B. coli*) ; puis vient un bacille aérobie que nous avons isolé, et qui fournit, dans les cultures, des colonies grises devenant ensuite jaune pâle. C'est une bactérie qui liquéfie la gélatine, ne coagule pas le lait et ne se colore pas par la méthode de Gram. Vient ensuite le *Bac. lactis aerogenes*, quelques coccus et cocco-bacilles, puis des bactéries anaérobies facultatives. Ces dernières correspondent probablement aux bactéries acidophiles de Moro et au *B. bifidus* de Tissier. En tout, nous avons isolé dans les excréments des souris normales 15 espèces différentes de bactéries. Nous n'avons pu isoler ni les longues et grosses bactéries, ni les bactéries sporifères, ni celles à extrémités pointues.

Dans les excréments des souris ayant absorbé le ferment pendant un temps plus ou moins long, deux microbes prédominent : 1° un bacille, qui, après un séjour de 3 à 4 jours dans le thermostat, se révèle comme un anaérobie facultatif et forme de petites colonies (de 1 à 2 millimètres de diamètre) tantôt finement granulées, tantôt en forme de lentilles entourées d'une auréole de petites granulations. Ces bactéries se colorent par la méthode de Gram ; lorsqu'on les sème par piqûre, elles poussent d'abord comme anaérobies, ensuite arrivent à la surface ; dans un bouillon de sucre elles se développent faiblement, sous forme d'un léger trouble au fond de l'éprouvette ; elles ne coagulent pas le lait, mais modifient sa réaction. Elles sont acido-résis-

tantes; 2° un microbe qui, 24 heures après l'ensemencement, forme des colonies punctiformes, amorphes par son aspect extérieur, il rappelle le *B. coli*, ne prend pas la coloration de Gram et ne provoque par de dégagement de gaz dans les milieux sucrés. On rencontre également le *B. coli*, mais il est peu nombreux; dans certaines cultures il nous a même été impossible de le trouver. En tout, les excréments des souris à ferment nous ont permis d'isoler 9 espèces différentes de microbes.

Quant aux bactéries que nous n'avons pas réussi à isoler, on constate, sous le microscope, que, sans disparaître complètement, elles deviennent cependant moins nombreuses. Les bactéries sporifères et les spirochètes disparaissent.

Il faut également noter une certaine augmentation de cellules ovales des levures se colorant par la méthode de Gram et fortement acido-résistantes.

Ainsi, nous avons pu constater, dans la flore intestinale des souris ayant absorbé du ferment, des modifications très considérables.

V

Quelles étaient, maintenant, les modifications subies par la flore intestinale des souris pour lesquelles on mélangeait, aux graines qui leur servaient de nourriture, diverses autres substances?

Chez les souris ayant reçu pendant 7 mois une nourriture stérile (graines et eau), on n'a pu constater aucun changement notable ni dans la composition de la flore excrémentitielle, ni dans le nombre de ses microbes. De même, aucune modification n'est survenue chez les souris auxquelles on donnait du lait stérilisé. Nos recherches contredisent sous ce rapport celles de Zuckdorff[1] et confirment pleinement celles de Hammerl[2] et de Ballner[3].

La flore des souris ayant absorbé, avec leur nourriture, des *Bac. prodigiosus* n'a subi non plus aucune modification. Chez celles ayant reçu du *Bac. pyocyaneus*, on a constaté, pendant 5, 6 semaines, une augmentation du nombre de microbes, surtout de ceux provoquant des dégagements de gaz; dans la suite,

1. *Arch. f. Hygiene*, 1886.
2. *Zeitschr f. Biol.*, 1897, Bd. 17 (35), p. 355.
3. *Ibid.*, 1904, Bd. 45, p. 399.

cet effet s'effaçait et le retour à l'état normal s'effectuait. La flore des souris ayant absorbé du lait coagulé par l'acide lactique pris en quantité notée plus haut, ne montrait non plus aucune différence essentielle : au dixième mois de ce régime, on n'a pu constater qu'une légère diminution dans le nombre des bactéries donnant naissance à des dégagements gazeux.

Une différence très nette, au contraire, cédant à peine à celle qu'on a pu voir chez les souris à ferment, était constatée dans la flore des souris ayant reçu des cultures de la bactérie bulgare, chauffées, pendant 4 heures, à 56°. Même disparition rapide de dégagements de gaz, même diminution du nombre total des microbes, même augmentation de celui des bactéries se colorant par la méthode de Gram.

Le tableau suivant montre la diminution du nombre de bactéries sous l'influence de ces divers régimes ; c'est le résultat des calculs du nombre de microbes, faits lors d'une des expériences. Le calcul était fait en comptant le nombre des colonies dans les cultures anaérobies sur agar agar.

TABLEAU I

NOMBRE DE COLONIES DANS 1 MILLIGRAMME D'EXCRÉMENTS

I.	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Souris de contrôle.	Souris ayant absorbé du ferment bulgare.	Vieilles souris ayant absorbé du ferment bulgare.	Souris ayant absorbé de l'acide lactique.	Souris ayant absorbé du ferment chauffé à 56°.	Souris ayant reçu une nourriture stérilisée.	Souris ayant reçu du lait stérilisé.	Souris ayant reçu des *B. pyocyaneus*.	Souris ayant absorbé du *B. prodigiosus*.
1.661.000	318.000	829.000	1.707.000	803.500	1.630.000	1.590.000	1.820.000	1.624.000

A l'effet de déterminer le degré de virulence des excréments des souris soumises à ces divers régimes, nous avons injecté 1/2 c. c. d'une émulsion de ces excréments sur bouillon dans la cavité intrapéritonéale de toute une série de souris normales. Voici les résultats que nous avons obtenus : les souris qui ont reçu les excréments des animaux de contrôle ont succombé, l'une au bout de moins de 14 heures, l'autre au bout de 18 heu-

res ; celles à qui l'on a injecté les excréments des groupes VI et VII (voir table I) semblaient avoir été très malades, mais se sont rétablies ; les autres n'ont manifesté aucun symptôme de maladie.

Dans la deuxième série d'expériences nous avons comparé la faculté des différents excréments de provoquer la putréfaction de la viande. Nous avons, dans ce but, découpé, de la façon la plus aseptique possible, des fragments de muscles chez un lapin fraîchement tué, et les avons transportés dans les éprouvettes ; dans chacune de ces éprouvettes on a ajouté 1/4 de c. c. de l'émulsion mentionnée plus haut ; puis les éprouvettes ont été soudées et transportées, pour 3 jours dans le thermostat. Passé ce délai, on plongeait dans chacune un morceau de papier imbibé d'un solution d'acétate de plomb ; son noircissement indiquait le degré de putréfaction. Le résultat fut très net et conforme aux autres indications : c'étaient les groupes II et V qui donnèrent le moindre noircissement, le plus considérable fut constaté chez les souris de contrôle, le milieu était tenu par les groupes IV et VI. Dans les groupes II et V la viande avait à peine changé d'aspect ; dans les autres, elle avait pris une teinte vert pâle.

Le tableau suivant montre les changements survenus dans le poids des souris.

TABLEAU II (*Voir tableau I*).

GROUPES	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X[1]
Avant le commencement des expériences.	19	18	20	26	25	23	25	18	20	26
Au bout de 13 jours.	19	18	20 ½	—	—	—	—	18	20	—
— 30 —	20 ½	20	22	27	—	23 ½	25	21	20	26
— 45 —	18	20 ½	27	23	—	24	24 ½	22	18 ½	28
— 60 —	19	24	27	22 ½	—	23	23	19	19	27
— 80 —	20	21	24	21 ½	25	21 ½	24	22 ½	20	28
— 100 —	15 ½	21	22	22	23	22	23	18	21	26
— 120 —	14 ½	21	21	22	25	21	21	20	22	28
— 150 —	—	22	25	22	26	22	23	19 ½	22	28
— 240 —	—	24	—	22	25	21	21	18	21	28
Augmentation...	—	6	5	—	0	—	—	0	1	2
Diminution..........	4 ½	—	—	4	0	2	4	0	—	—

1. Vieilles souris de contrôle.

1. Résultats moyens.

TABLEAU III (*Poids des jeunes animaux.*)

NÉS DE GROUPES	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Au bout de 13 jours.	7	6	9	6	»	N'ont pas donné de progéniture.	»	5	4	N'ont pas donné de progéniture.
— 30 —	9	8 2/3	12	8 1/2	»		7	7 1/4	9	
— 45 —	11	12 2/3	»	»	9		7 2/3	11	11 2/3	
— 60 —	14 1/2	15 1/3	17	11 1/2	12		»	13	14	
— 80 —	14 1/2	16 1/3	17	15 5/6	»		»	15 1/4	»	
— 100 —	14	19	18	16	15		12	15 1/6	18	
— 120 —	14	19	18	17	»		»	16	18	
— 150 —	15	20	18	»	»		»	15	18	
— 240 —	16	23 1/2	»	15	16		»	18	18	

Il en résulte que les souris ayant absorbé du ferment sont celles qui se sont le mieux développées.

VI

La comparaison de la flore des souris ayant absorbé du ferment, avec celle des souris ayant reçu de l'acide lactique, montre clairement que l'action des cultures du microbe bulgare sur la désinfection de l'intestin tient non seulement à l'acide lactique, mais encore à un autre facteur, dépendant probablement de la présence des bactéries elles-mêmes et de leurs produits.

Pour trancher cette question, nous avons institué *in vitro* deux séries d'expériences : 1° détermination de l'action du microbe bulgare vivant en symbiose avec d'autres microbes intestinaux, et 2° détermination de l'influence de ses produits sur les autres microbes.

Dans la première série, les excréments et les microbes isolés qui entrent dans leur composition (principalement *Bac. coli*) étaient semés en même temps que le microbe bulgare dans du bouillon sucré et dans du lait ; pendant 15 jours on a observé constamment leurs rapports réciproques.

Dans l'ensemencement sur bouillon sucré, le microbe du ferment ne manifestait, les 3 ou 4 premiers jours, qu'une vitalité faible ; il n'apparaissait qu'en petit nombre au milieu des autres et n'était par conséquent pas toujours visible dans le champ du microscope. A partir du 5e et 6e jour le nombre des bactéries du ferment augmente un peu et, bien qu'il soit loin de prédominer sur les autres, ne diminue plus.

Dans l'ensemencement d'un mélange de microbes sur du lait, on voit, dès le 3e ou le 4e jour, le microbe du ferment prédominer sur les autres; à la fin de la première semaine la plupart de ces derniers périssent ; seules restent, généralement, les bacilles acido-résistants.

On peut expliquer une telle prédominance en supposant que le lait offre à la multiplication des bactéries du ferment un milieu plus favorable que le bouillon sucré.

Pour étudier l'influence des produits de ce microbe, on ajoutait dans les éprouvettes ensemencées soit avec excréments, soit avec des microbes isolés, 1° de l'acide lactique du ferment filtré et 2° le même acide filtré et stérilisé, dans lequel les produits bactériens probablement anihilés, et 3° de l'acide lactique en solution équivalente.

Ces expériences ont montré que toutes ces substances possèdent des propriétés bactéricides bien marquées. En en ajoutant, depuis 1 c. c. à 10 c. c. de culture, on voit nettement que l'action bactéricide du ferment filtré et non stérilisé est beaucoup plus forte que celle de la solution équivalente de l'acide lactique et aussi que celle du ferment stérilisé.

Peut-être est-ce à l'aide de cette action (qui rappelle celle d'autotoxines de Conradi et de Kurpjuweit[1]) qu'on peut expliquer pourquoi la désinfection de l'intestin est plus considérable chez les souris ayant reçu le ferment — vivant ou privé de la possibilité de se reproduire — que chez celles ayant absorbé une quantité équivalente d'acide lactique.

VII

Au bout de combien de temps les microbes du ferment s'acclimatent-ils dans l'intestin ?

Lorsqu'on examine les excréments sous le microscope, on ne constate aucune prédominance du ferment sur les autres bactéries. Mais même dans les cas où on ne le distingue pas du tout, on peut facilement revéler sa présence en faisant des ensemencements d'excréments sur du lait. Les expériences citées plus haut nous ont montré qu'en mélangeant le microbe du ferment

1. *Münch. med. Woch.*, 1905. Nos 37, 45, 46.

aux excréments semés sur du lait, on le voit prendre le dessns sur les autres microbes. Le même résultat est obtenu si l'on ensemence sur du lait des excréments qui le contiennent. La moindre addition de ce microbe change en même temps l'aspect microscopique de la coagulation, en le rapprochant de ce qui s'observe quand le lait se coagule sous l'action de la culture pure du ferment, c'est-à-dire la formation d'un *coagulum* plus régulier, avec la couche rosée caractéristique au-dessus de la masse blanche.

Nous avons ainsi pu constater la présence du ferment chez les jeunes souris dès le 4e jour après la naissance.

Chez les souris adultes, le ferment s'acclimate plus lentement, pas avant le 10e jour.

Lorsque on nourrit pendant 4 mois les souris avec ce ferment, on constate sa présence pendant quatre semaines encore après le passage au régime ordinaire; après un mois et demi, pendant quinze jours. Et même après que le ferment a complètement disparu de l'intestin, nous avons constaté pendant deux mois encore des traces de son action: diminution générale du nombre des bactéries et affaiblissement de l'odeur dégagée par des cultures ensemencées avec des excréments.

Les résultats de l'étude, menée de front avec les précédentes, de l'apparition dans la flore excrémentitielle du *B. pyocyaneus* et de *B. prodigiosus*, ont été bien différents.

Le premier apparaît le 11e jour après le commencement du régime et, administré pendant 4 mois, disparaît le 5e jour après avoir été absorbé pour la dernière fois.

Le second n'a pu s'acclimater qu'un mois après qu'on eût commencé à l'administrer aux animaux et disparut 9 jours après la cessation du régime.

Pour terminer nos recherches, nous avons essayé d'étudier l'influence du microbe bulgare sur les maladies intestinales des souris, provoquées par la bactérie de Danysz[1]: On sait que cette maladie a pour symptôme une forte diarrhée suivie de septicémie et entraînant une issue fatale.

Comme base de nos expériences, nous avons pris certaines indications relatives aux succès thérapeutiques de la lactobacil-

1. *Ann. Institut Pasteur*, 1900, p. 193

line dans les affections intestinales. Voir les communications de Cohendy[1], Brochet[2] et Martinet[3]).

La première expérience était celle-ci : On dispose 4 récipients en verre contenant chacun 4 souris. Le premier groupe recevait, avec la nourriture, une culture d'un jour du microbe de la maladie de Danysz; pour les autres groupes on mélangeait à cette culture : 1° notre ferment, 2° le même ferment chauffé à 56°, et 3° du lait coagulé au moyen d'une quantité équivalente d'acide lactique. Les résultats obtenus ont été les suivants : les 4 premières souris ont succombé, 3 au bout de 24 heures, la quatrième au bout de 3 jours ; les autres ont survécu.

Dans les expériences suivantes le ferment était administré après que les souris eurent absorbé des cultures pures et se trouvaient dèjà malades. Dans ces cas également, nous avons pu constater l'action bienfaisante du ferment, à moins que les souris ne fussent trop gravement atteintes. Cependant l'administration de l'acide lactique donnait les mêmes résultats. Il est probable que ce qui agissait dans ces cas, c'était l'acide lactique, tandis que le ferment lui-même ne jouait, comme tel, aucun rôle particulier.

Résumé.

Le ferment bulgare exerce une influence marquée sur la flore excrémentitielle des souris. Les modifications qu'il provoque sont : la diminution du nombre de bactéries, la transformation générale de la flore, la diminution de la faculté de provoquer la putréfaction, la virulence moindre des excréments.

L'action du ferment ne peut pas être exclusivement attribuée à la production de l'action lactique : les produits sécrétés par ses bactéries y jouent également un rôle considérable.

Le ferment s'acclimate dans l'intestin après un certain délai (10 jours pour les souris adultes). Après qu'on eut cessé de

1. Essai de traitement de l'entérite muco-membraneuse aiguë, etc. *C. R. Société Biol.* 1906, n° 18.

2. Cité par Tarkhanoff dans « L'importance du lait caillé du professeur Metchnikoff pour la santé » (en russe). *Le Médecin russe (Rouski Vratch)*, 1906, n° 11.

3. Administration du lait caillé dans le néoplasme stomacopancréatique, *La Presse Médicale*, 1906, p. 40

l'administrer, il reste dans l'intestin pendant un temps plus ou moins considérable encore.

Les cultures faites dans du lait exercent une action bienfaisante sur les souris contaminées par les bactéries de Danysz. Mais ici l'action est due exclusivement à l'acide lactique.

Je me permettrai de terminer cette étude en exprimant ma sincère gratitude à M. le professeur E. Metchnikoff pour le sujet si intéressant qu'il m'a indiqué et pour ses précieux conseils, ainsi que pour la cordialité qu'il m'a témoignée pendant mon séjour au laboratoire.

J'exprime également toute ma reconnaissance à M. le docteur Besredka et à M. le docteur Weinberg.

MÉTHODE POUR ISOLER LES ANAÉROBIES

Par F. MARINO

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Depuis quelque temps nous étudions la flore intestinale de l'homme et d'autres mammifères, ainsi que celle des oiseaux et des poissons.

En présence de l'insuffisance ou de l'incommodité des méthodes usuelles pour l'isolement des anaérobies stricts, nous avons senti combien serait avantageux un procédé assurant, avec le minimum de manipulations, un prélèvement facile des colonies isolées.

En conséquence, nous avons imaginé la méthode suivante, basée sur l'emploi de deux substances : la glucose, recommandée par Liborius [1] comme réducteur, et le sérum, préconisé par Duenschmann [2] comme matière animale.

Voici les détails de notre procédé :

A la gélose ordinaire on ajoute 0,3 à 0,5 0/0 de glucose, puis on répartit le milieu nutritif dans de gros tubes à essai, de façon que chaque tube en contienne de 30 à 35 c. c.

1. Liborius, *Zeitschrift f. Hyg.*, Bd. I, 1886, pages 122 et 165.

Au sujet de la proportion de glucose qu'il faut ajouter au milieu nutritif, nous devons faire remarquer qu'on ne doit jamais dépasser 0,5 0/0. Liborius, en Allemagne, et d'autres savants, en France, croyaient que l'adjonction de 2 0/0 de glucose hâtait le développement des anaérobies. Mais plus tard on a constaté, — et c'est Th. Smith qui a attiré avec insistance l'attention sur ce point — que la proportion de 2 0/0 de glucose, dans beaucoup de cas, endommage la culture et en empêche le développement.

D'après Th. Smith le glucose est indispensable pour le développement des anaérobies stricts, mais il ne doit pas être en excès. (Voir Th. Smith, *Centralb. f. Bakter. Abth.* Bd. XVIII, 1895, page 7 ; *Ib.*, Bd. XXII, 1897, page 49.)

2. Duenschmann H., Etude expérimentale sur le charbon symptomatique et ses relations avec l'œdème malin, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 492.

A propos de ce travail nous devons faire remarquer que plusieurs savants italiens et allemands, ignorant les recherches de Duenschmann faites dans le laboratoire de M. Roux, ont donné comme très nouveau l'emploi du sérum et des tissus animaux et végétaux dans les cultures des anaérobies. On a l'habitude, à l'*Institut Pasteur*, d'ajouter du sérum au milieu de culture des microbes anaérobies à l'effet d'obtenir un rendement de toxine plus élevé.

Dès 1894, dans le même but, Duenschmann a *essayé des milieux de plus en plus riches en matières abuminoïdes*, (macération de viande, sérum de bœuf) M. Roux, lui-même (cité par Duenschmann, p. 402), avant les recherches de Duenschmann, avait employé le sérum de bœuf pour cultiver le vibrion septique. Dans notre procédé d'isolement le sérum est aussi très utile et hâte le développement de tous les anaérobies

Pour l'emploi, on liquéfie le milieu dans l'eau bouillante et ensuite on met les tubes au thermostat à 42°. Lorsque les tubes ont pris cette température, on verse dans chacun d'eux 1 c. c. de sérum de lapin ou de cheval, préalablement chauffé à 55° pendant 20 minutes, puis on ensemence la matière à examiner. Du premier tube on ensemence le deuxième, de celui-ci le troisième et quelquefois de ce dernier un quatrième, pour avoir des colonies suffisamment isolées.

Après avoir fait tous les ensemencements, on verse la gélose de chaque tube dans la moitié la plus large d'une boîte de Petri et on la recouvre de la seconde moitié, en tournant en haut l'ouverture de celle-ci ; ainsi le milieu est compris et pressé entre deux surfaces de verre parfaitement stériles.

Nous recommandons, pour plus de commodité, de stériliser les boîtes de Petri en déposant les deux moitiés dans le rapport où elles doivent se trouver après l'introduction de la gélose



entre elles. On n'a ainsi qu'à soulever la partie supérieure et on évite toute souillure des faces qui doivent rentrer en contact avec le milieu de culture. Pour éviter toute contamination par l'air extérieur, on recouvre le tout par une plaque plus grande qui est stérilisée en même temps que les plaques sous-jacentes.

On laisse 3 à 4 jours les boîtes à l'étuve pour permettre à tous les anaérobies de se développer et pour faire disparaître l'eau de condensation que pourrait contaminer les colonies pures.

Il va sans dire que le développement d'un certain nombre d'anaérobies, qu'on voit commencer après 18 à 24 heures, peut être observé à l'œil nu ou au microscope.

Pour le prélèvement des colonies, on détache doucement les deux surfaces de verre l'une de l'autre, de façon que la lame de gélose reste adhérente à l'une ou l'autre d'entre elles, et on pêche les colonies avec une pipette de verre effilée à son extrémité.

Au fur et à mesure qu'on isole les colonies pour les mettre

dans des milieux liquides ou autres, on préserve la boîte de Petri de toute contamination en la mettant sous une cloche stérile où on peut la laisser plusieurs jours.

Dans notre méthode, comme dans celle de MM. Veillon et Zuber, la pipette est presque indispensable.

Nous faisons observer qu'on se trouve quelquefois en présence d'anaérobies très exigeants (certaines espèces de l'intestin), qui se développent très lentement.

Les causes de ce phénomène nous sont inconnues, mais en ce cas nous conseillons de faire des cultures anaérobies en gélose fraîche et chauffée, à laquelle on ajoute, avec le sérum, 3 0/0 de glucose et 3 0/0 de lactose.

Quand les microbes se sont développés, on peut les isoler et les cultiver fort bien en milieu liquide (tubes de Roux [1], d'Achalme).

Jusqu'à présent, pour toute espèce d'isolement d'anaérobies, nous nous sommes servi de la méthode de MM. Veillon et Zuber [2] qui est *très commode pour cultiver les anaérobies à l'état de cultures pures*, mais qui ne se prête pas bien à l'isolement des germes contenus dans un mélange microbien quelconque. (Impossibilité d'observer les colonies au microscope, difficulté de les prélever, etc.)

En dehors de la méthode de M. Veillon, il y a celle, insuffisante à notre avis, de Koch [3]. Cet auteur pensait qu'on pouvait cultiver les anaérobies en tenant à l'abri de l'air des cultures faites en boîtes.

Dans ce but, il mettait sur la gélatine, gélose ou autre milieu, une mince lame de mica stérilisée à la flamme. Cette méthode ne donne pas de bons résultats, car on sait que la pression, seule, est impuissante à chasser complètement l'oxygène du milieu de culture. Une méthode qui n'assure pas cette expulsion parfaite est toujours défectueuse, car, d'après les études très intéressantes de Beijerinck [4], nous savons qu'il existe deux espèces d'anaérobies :

1. Roux E., Sur la culture des microbes anaérobies, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, page 49.

2. Veillon et Zuber, Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie, *Archives de médecine expérimentale*, 1898, page 517.

3. Koch R., *Deutsche med. Wochenschr.*, 1884, p. 502.

4. Beijerink, *Die Butylalcoholgährung*, Amsterdam, 1893, p. 27.

Une qui peut absorber toute trace d'oxygène libre contenu dans les milieux nutritifs ;

Une autre qui ne possède pas cette propriété et qui exige, pour son développement, une absence absolue d'oxygène libre.

Donc, pour cette dernière espèce, la méthode de Koch, critiquée aussi par Liborius [1], serait inapplicable.

Nous ne prétendons pas d'ailleurs que notre méthode soit à l'abri de toute critique, mais, telle qu'elle est, elle peut rendre d'utiles services. Les bons résultats que nous en avons obtenus, nous ont déterminé à la faire connaître.

1. Liborius, *l. c.*

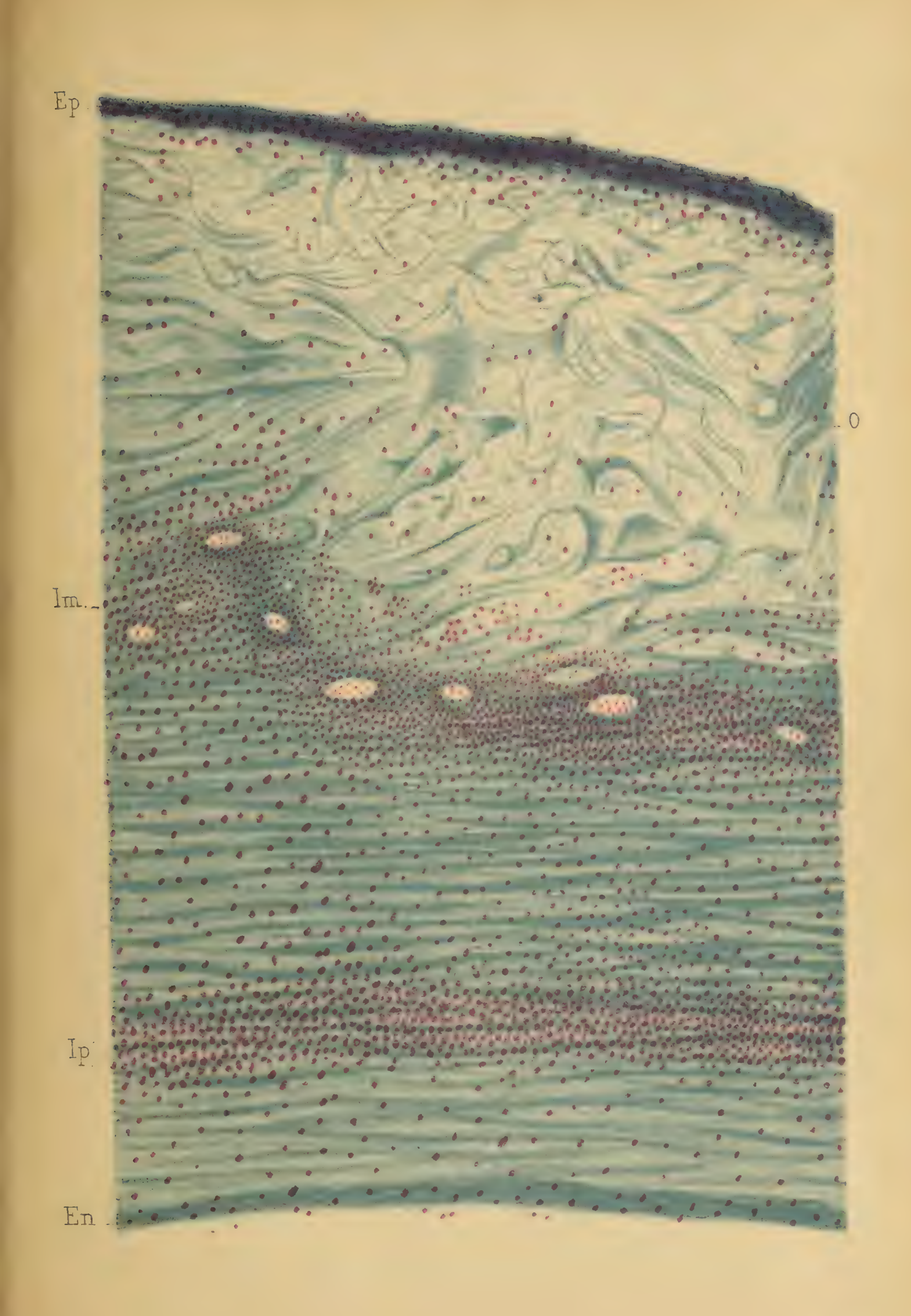
TABLE DES MATIÈRES

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

TABLE DES PLANCHES

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

Le Gérant : G. Masson.



$\frac{120}{1}$

V. Roussel del. & lith.
Imp. L. Lafontaine, Paris

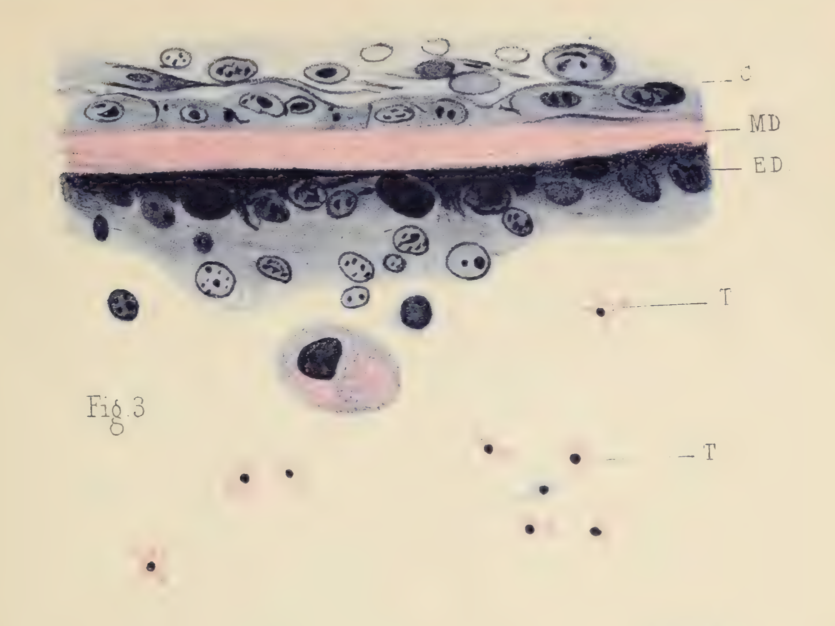


Fig. 2

Fig. 1.

T

C

Ce

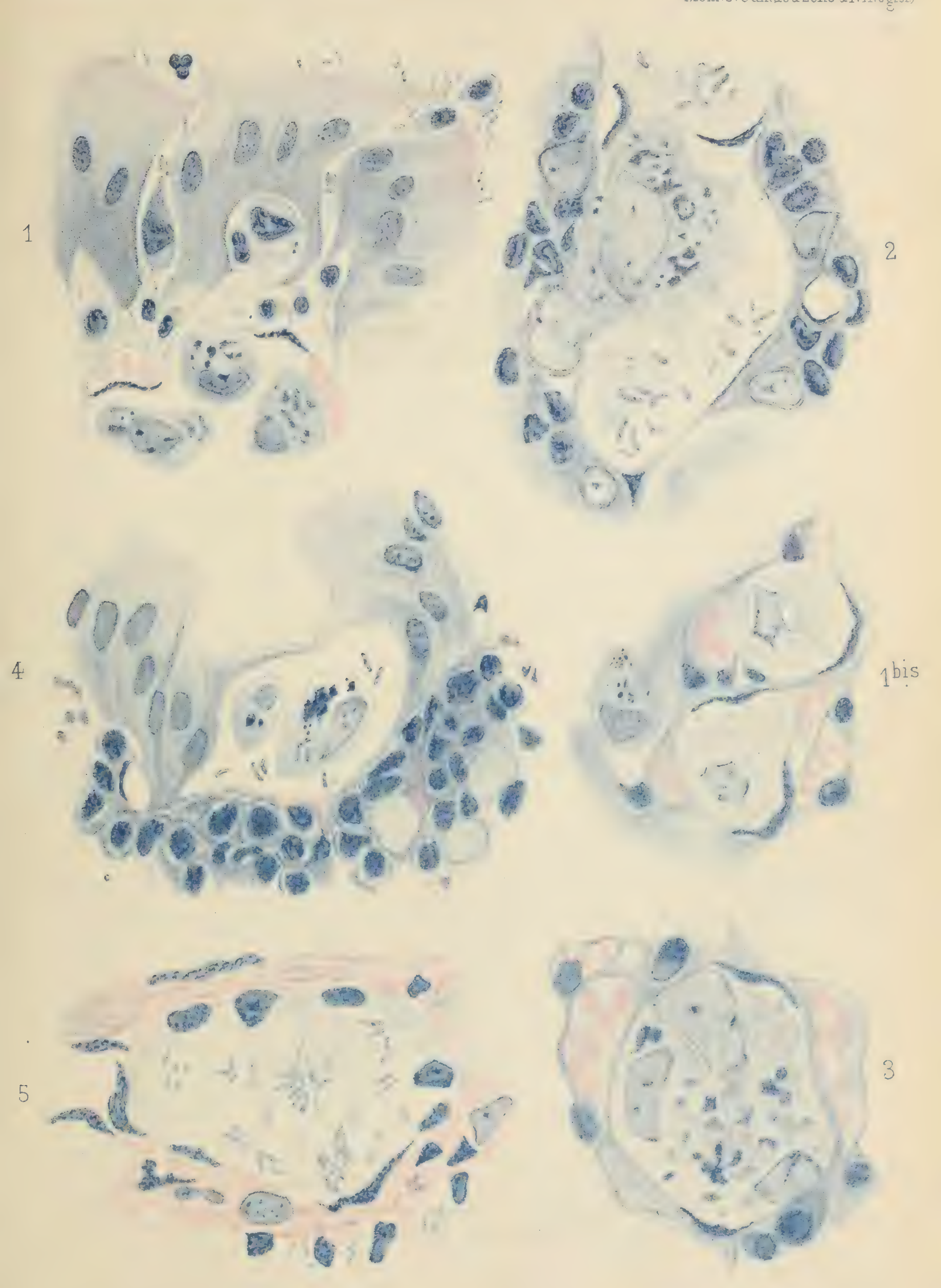
$\frac{800}{1}$

800

V. Roussel del. & lith.

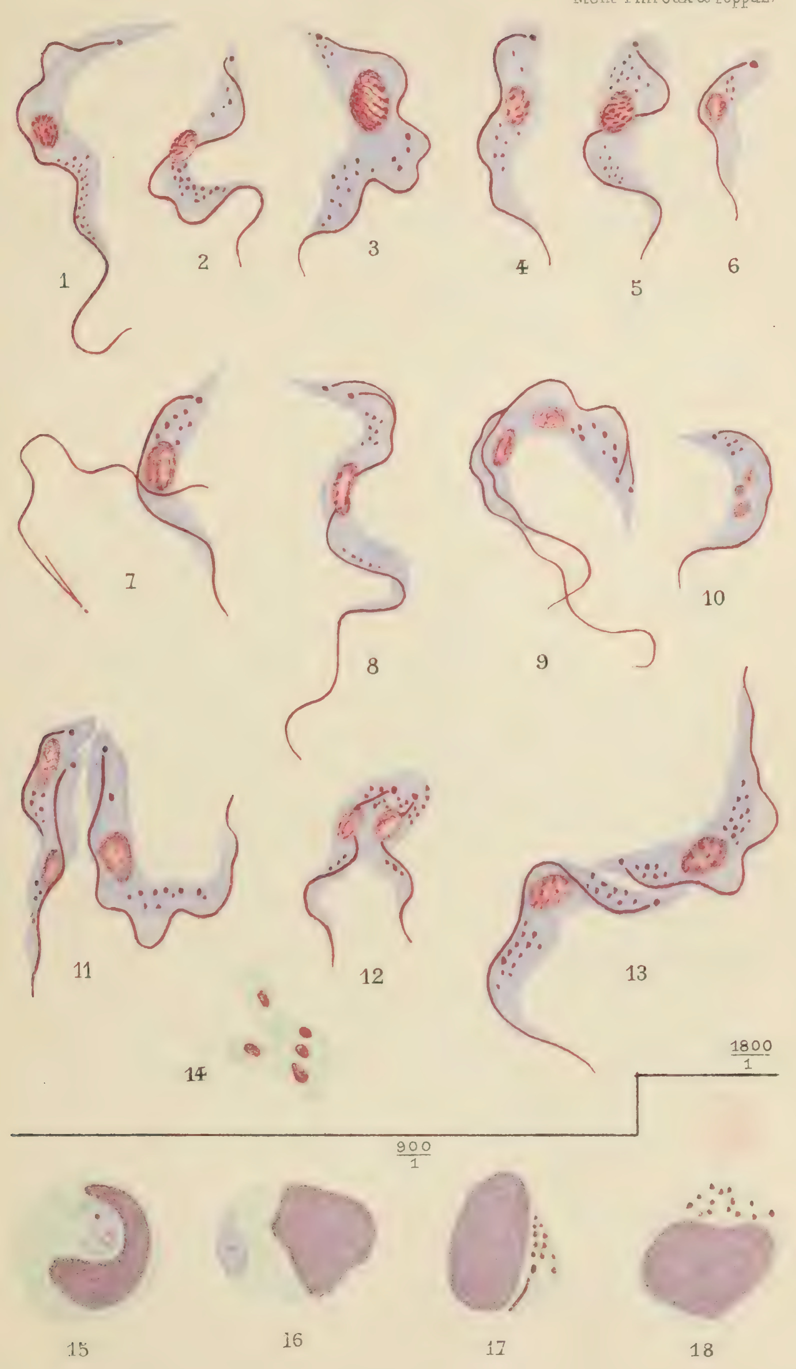
Imp. L. Lafontaine Paris.

(Mém. J. Cantacuzène & P. Riegler)



J. Cantacuzène del. *V. Roussel lith.*

Imp. L. Lafontaine, Paris



Dr Thiroux del. V. Roussel lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

1

2

3

4

5

6

Dr Vassal del.

V. Roussel lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

LINCHIA MAURA

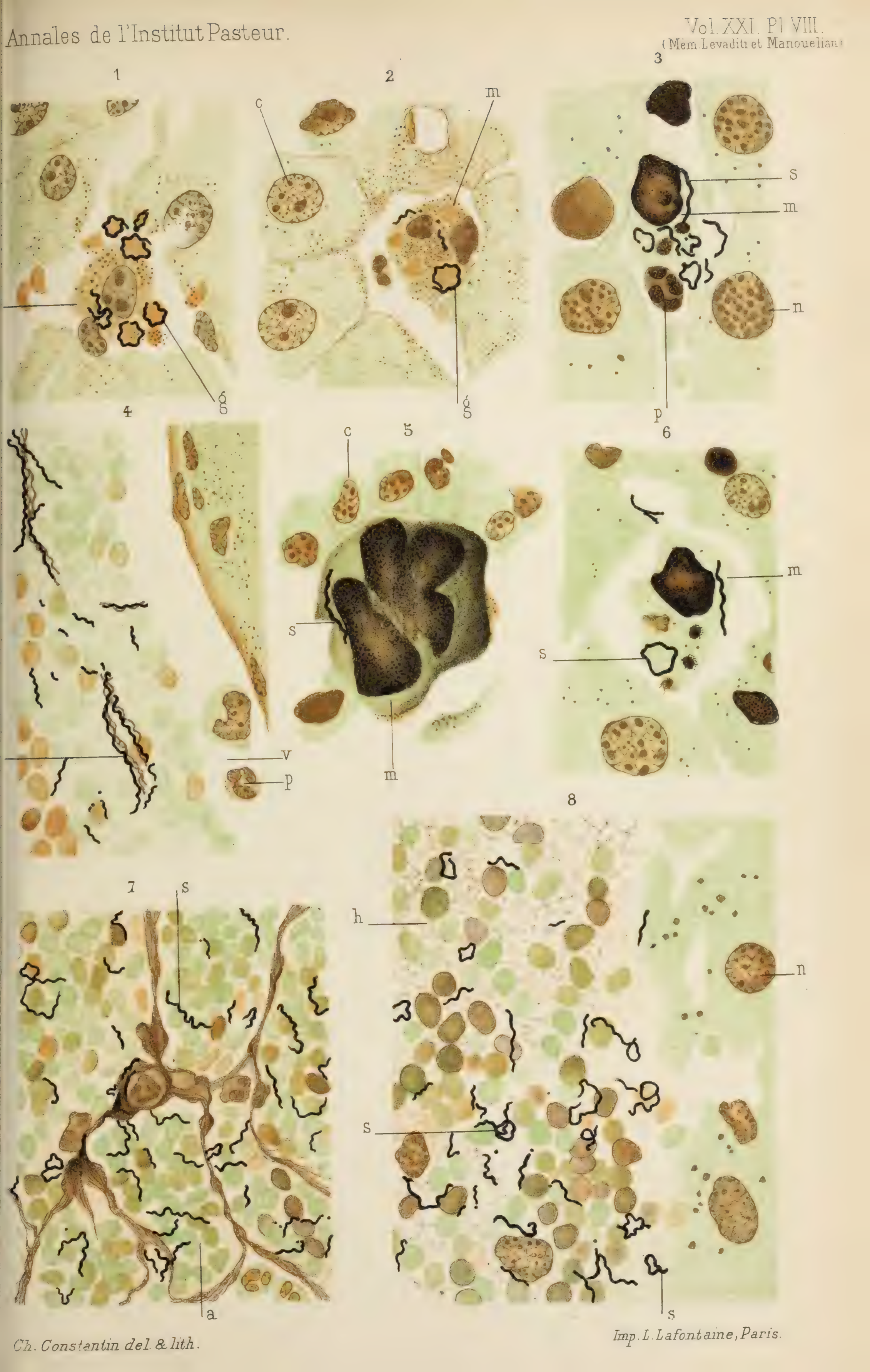


Dr Et. Sergent del.

V. Roussel lith.



Dr Sergent del.
Imp. L. Lafontaine, Paris.
V. Roussel lith.



Ch. Constantin del. & lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

 Vol. XXI. Pl. IX.
(Mém. Levaditi et Manouelian)

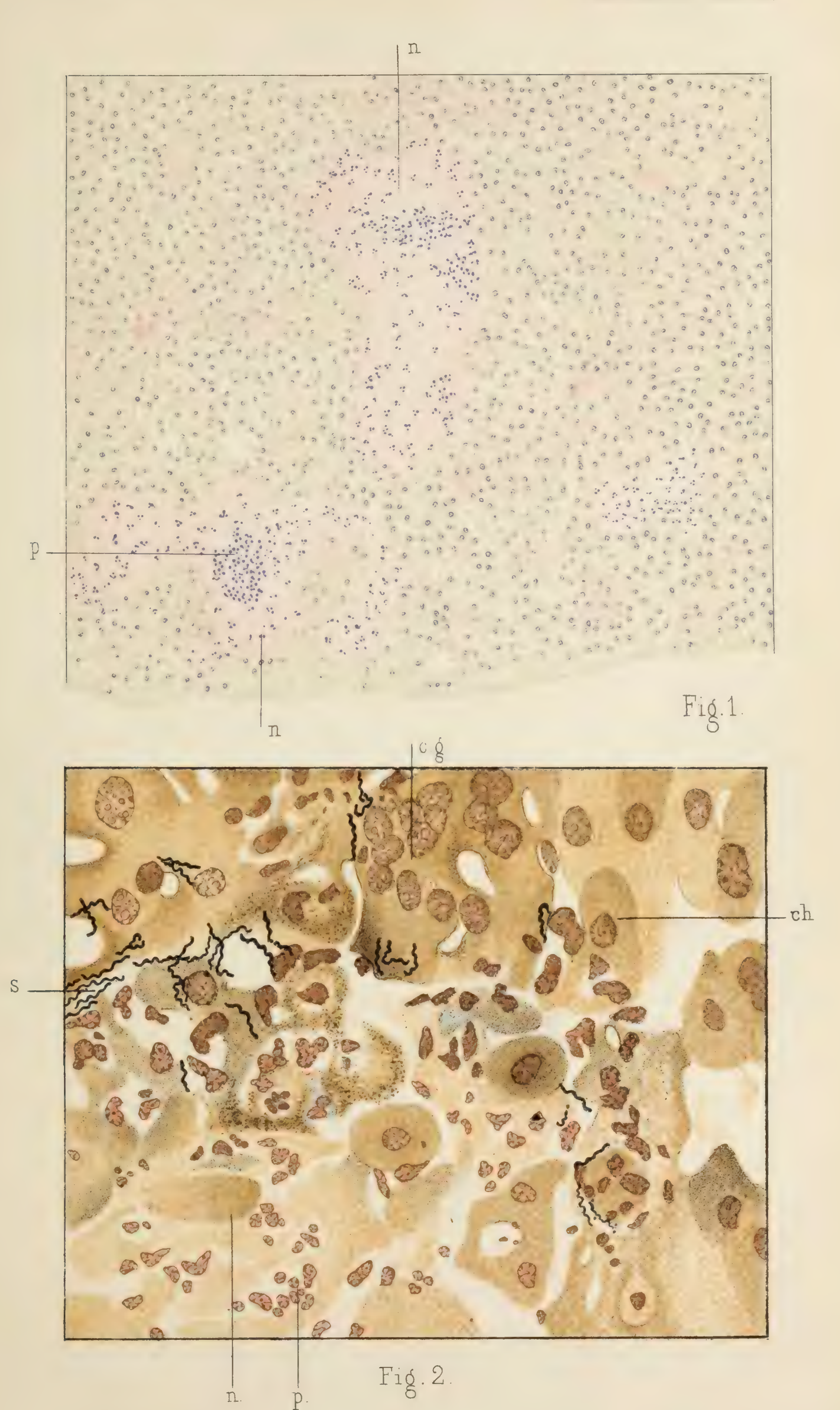


Fig. 1.

Fig. 2.

Ch. Constantin del. & lith.
Imp. L. Lafontaine, Paris

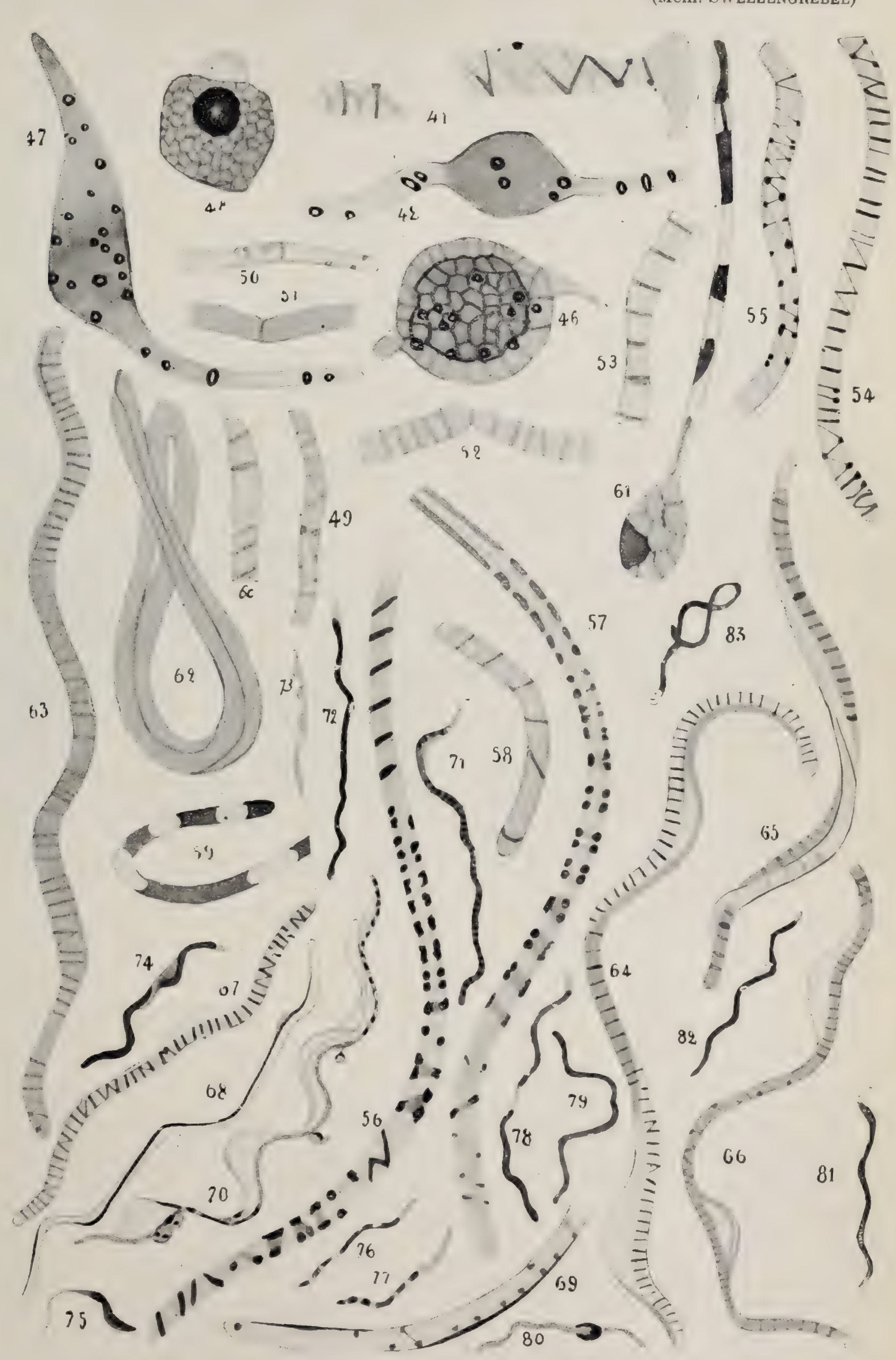


Imp. L. Lafontaine, Paris



N. H. Swellengrebel del

imp. Bouchet, Cusset.

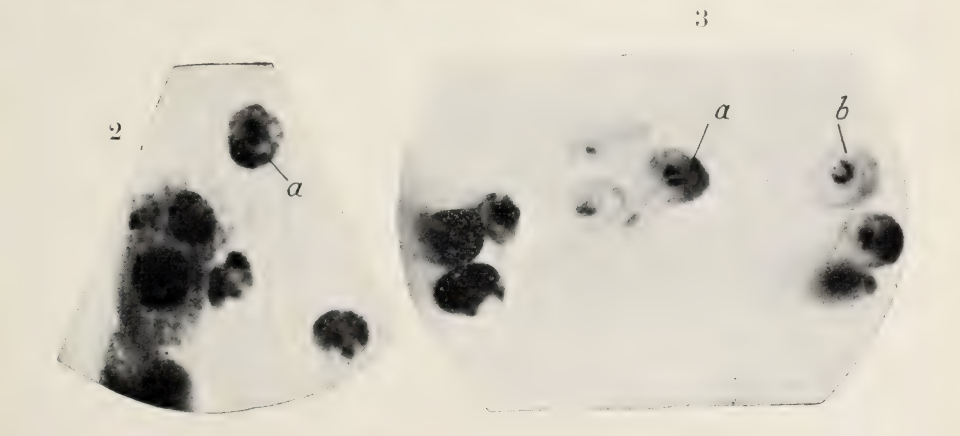


N. H. Swellengrebel del.

Imp. Bouchet, Cusset.

1

3



Jeantet, phot.

Imp. Bouchet, Cusset.



E. Pinoy del. V. Roussel lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

N
B
1

B
N
2

N
3

N
4

N N
5

N
6

N N
7

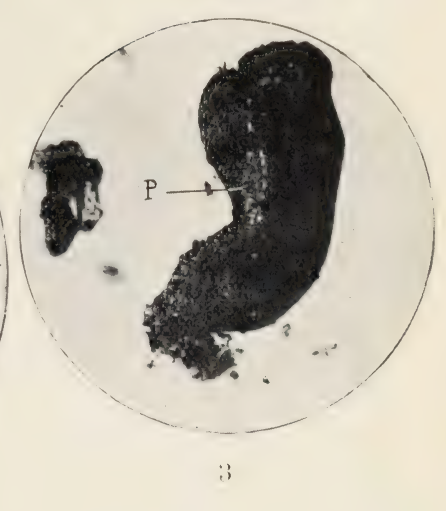
g n N K K
N
K
8 B C

E. Pinoy del. V. Roussel lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.



1

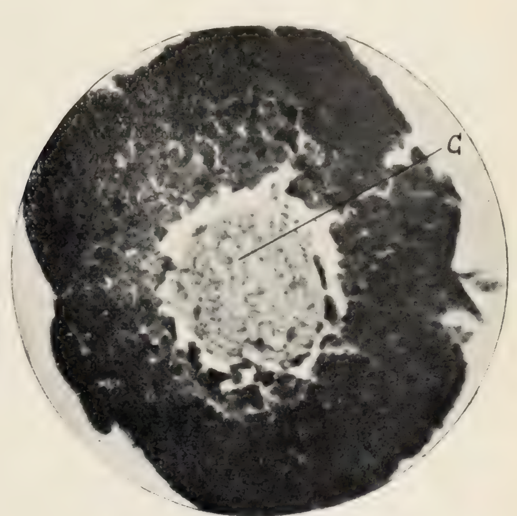


3

2

4

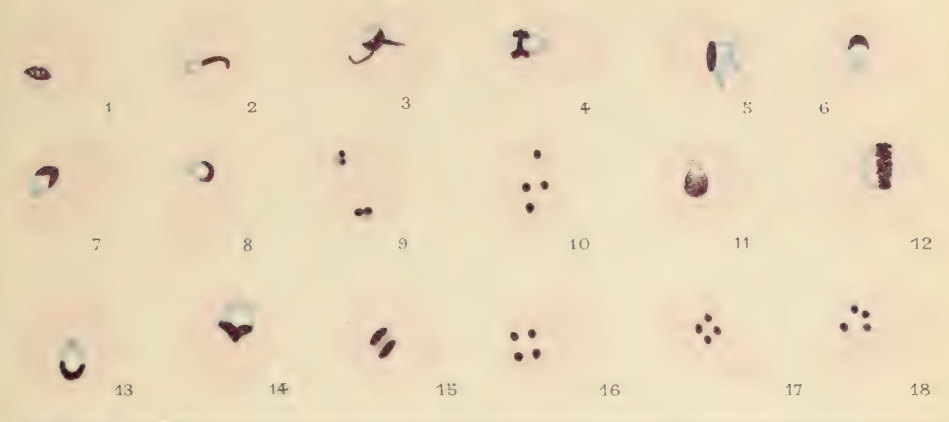




Jeantet, phot.

Imp. Bouchet, Cusset,

(Mém. Denier)



(Mém. Schein)

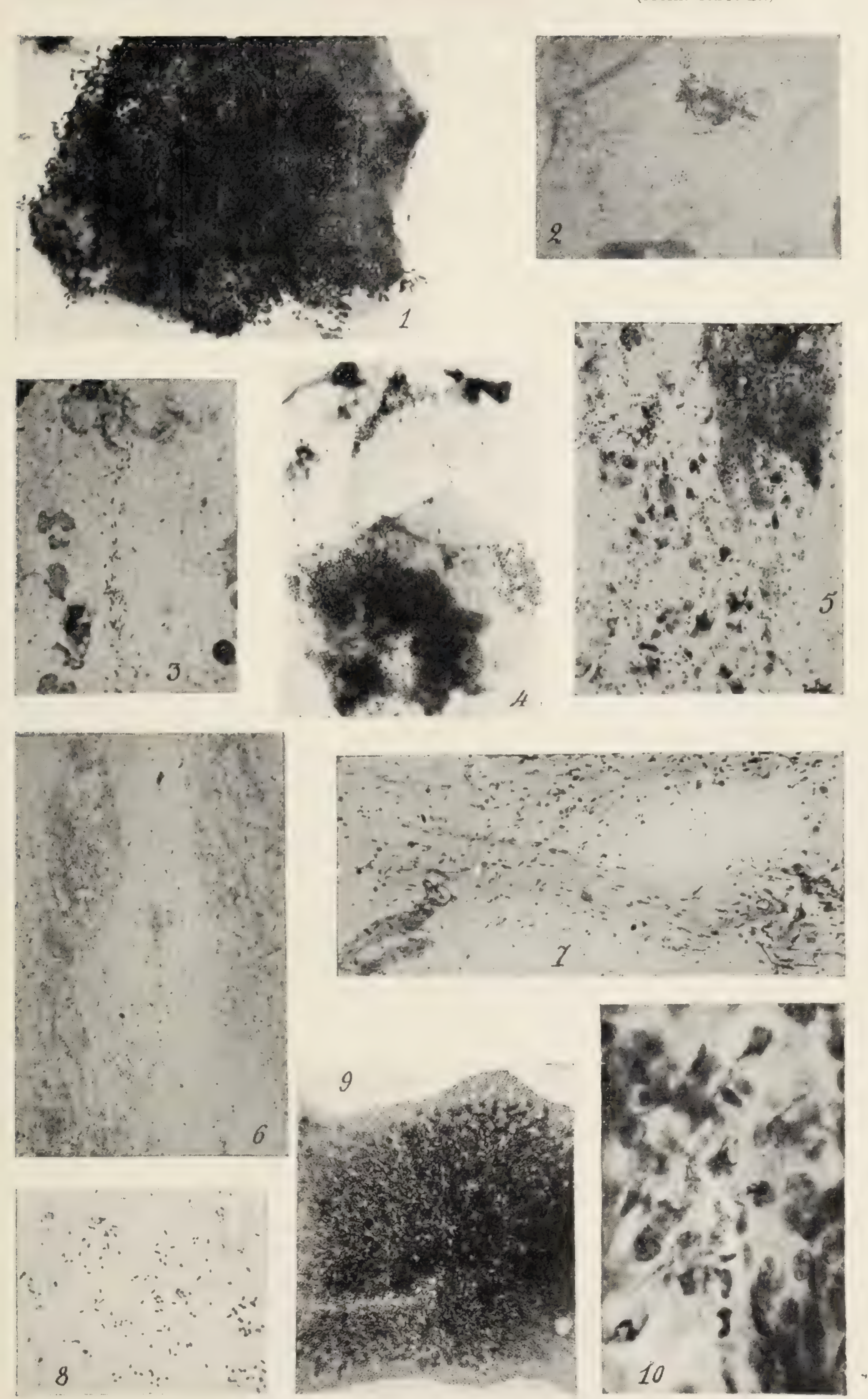
41 42 43 44 45 46 47 48 49 50

19 20 21 22 23 24 25

26 27 28 29 30 31 32 33

34 35 36 37 38 39 40

V. Roussel del. & lith. Imp. L. Lafontaine, Paris



Imp. Bouchet, Cusset

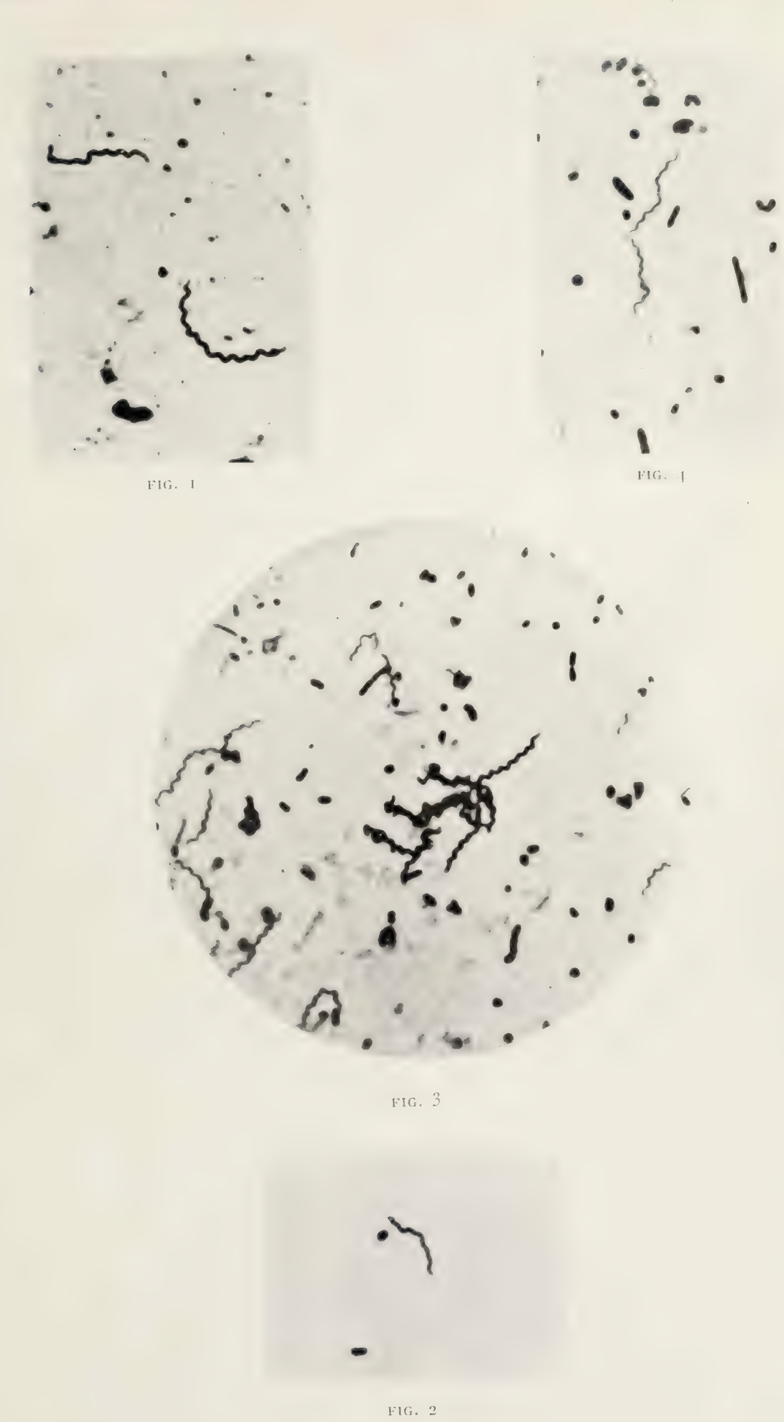


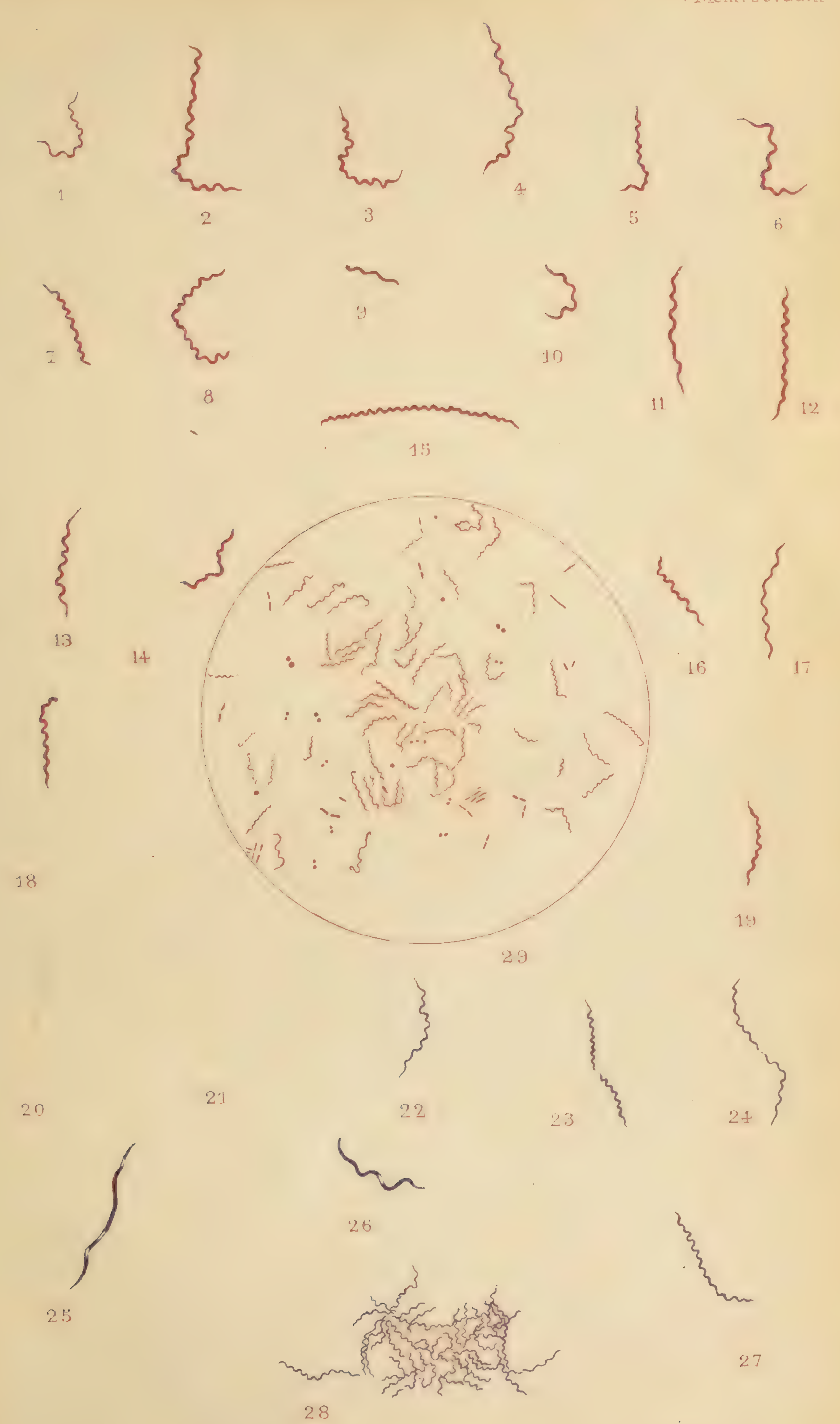
FIG. 1

FIG. 4

FIG. 3

FIG. 2

Imp. L. Lafontaine, Paris.



C. Constantin del. & lith.



Golovine del.

Imp. L. Lafontaine, Paris

V. Roussel lith.

(Mém. Weinberg et Romanovitch.)

Fig. 1.

a

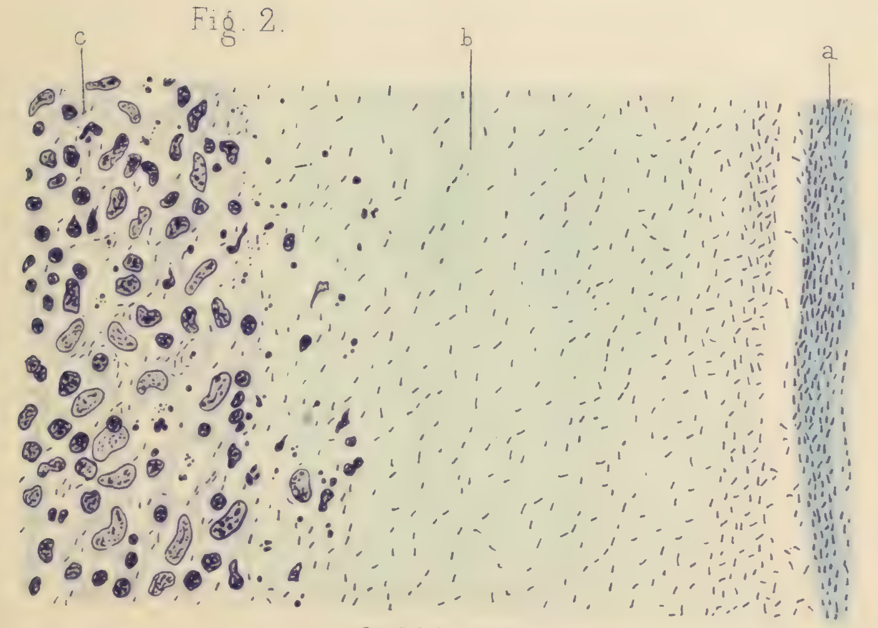
c

b

d

10/1

Fig. 2.



Karmanski del. *Imp. L. Lafontaine, Paris.* *V. Roussel lith.*

